

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE
STUDIJNÍ OBOR: FARMACIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE



Hydrofilně laminované membrány
Hydrophilically laminated nanomembranes

Martina Urbanová

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Pavel Doležal, CSc.

Hradec Králové, září 2013

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové dne:

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. RNDr. Pavlu Doležalovi, CSc. za všechnen čas, který mi věnoval při vypracování diplomové práce, za jeho rady, ochotu a pomoc. Také děkuji Mgr. Pavlu Berkovi a Mgr. Petru Vrbatovi za získání dat z HPLC a pomoc poskytnutou během měření.

Poděkování patří také mé rodině za podporu nejen v době psaní této práce, ale během celého studia.

OBSAH:

ABSTRAKT	3
ABSTRACT.....	4
1. ÚVOD.....	5
2. ZADÁNÍ PRÁCE	6
2.1 V teoretické části.....	6
2.2 V experimentální části	6
2.3 Dílčí úkoly experimentu	6
3. TEORETICKÁ ČÁST	7
3.1 Rozpustnost	7
3.2 Jednotky rozpustnosti.....	7
3.3 Klasifikace rozpustnosti	8
3.1.1 Klasifikace rozpustnosti dle lékopisů	8
3.1.2 Biofarmaceutický klasifikační systém (BCS).....	9
3.4 Metody zvyšování rozpustnosti.....	10
3.4.1 Fyzikální modifikace	10
3.4.2 Chemická modifikace - Inkluzní komplexy.....	14
3.4.3 Smíšené metody	16
3.5 Naproxen.....	18
3.6 Propylenglykol jako hydrofilní pojivo	18
3.7 Glycerol 85% jako hydrofilní pojivo	19
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	20
4.1 Použité látky	20
4.2 Přístroje	21
4.3 Pracovní postupy a metody	21
4.3.1 Příprava fosfátového pufru, pH 2,5	21
4.3.2 Chromatografické podmínky	22
4.3.3 Ověření chování naproxenu v silně kyselém pH	22
Příprava umělé žaludeční šťávy o pH 1,5 (simulace pH prostředí žaludku)	22
Ověření chování naproxenu v mírně kyselém pH 4,2	22
Příprava pufru pH 4,2	22
4.3.5 Ověření chování naproxenu v mírně alkalickém pH 7,7	23
Příprava TRIS pufru pH 7,7 (simulace pH prostředí střeva)	23

4.4 Práce s nanomembránami.....	23
4.4.1 Eluce nanovláknenných membrán s naproxenem.....	23
4.4.2 Vrstvení membrán.....	24
4.4.5 Eluce nanovláknenných membrán s naproxenem po jejich hydrofilní laminaci	25
4.4.6 Zpracování experimentálních dat.....	27
5. DOKUMENTACE.....	28
6. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	89
8. ZÁVĚRY	96
9. LITERATURA	97

ABSTRAKT

V teoretické části diplomové práce je popsána rozpustnost, její klasifikace a ovlivnění rozpustnosti. Dále tato práce zahrnuje informace o naproxenu jako léčiva liberačně hodnoceného v navazujícím experimentu.

Experimentální část se věnuje in vitro uvolňování naproxenu z nanovlákných membrán vytvořených elektrospinningem s ohledem možnosti na využití jejich vrstvení.

U nevrstvených i vrstvených nanovlákných membrán s rozdílnou koncentrací naproxenu (5 %, 15 % a 30 %) dochází do 5 minut k uvolnění od 10% do 90 % léčiva.

Celkově uvolněný podíl naproxenu po 60 minutách činil vždy asi 100 % celkového obsahu léčiva v nanomembráně. U nanovlákných membrán vrstvených za použití glycerolu nebo propylenglykolu jsou časové profily liberace naproxenu analogické jako u nevrstvených.

ABSTRACT

A theoretical part of the diploma thesis describes solubility, classification of solubility and ways of influencing of solubility, and it gives a detailed summary of naproxen as the drug further used and evaluated in *in vitro* experiments for drug release.

An experimental section is focused to *in vitro* release of naproxen from nanofibre membranes produced by electrospinning with regard to the possibility of the use of layering.

At both layered and non-layered nanofibre membranes of three different naproxen concentrations (e.g. 5%, 15% and 30% by weight) the drug release amounts within 5 minutes were from 10 to 90 percent of total amounts.

An overall percentage of naproxen released in 60 minutes was always about 100 % of the total drug loaded in the nanomembranes.

The nanofibre membranes layered with the glycerol and propylene glycol were of the same profiles as with non-layered membranes.

1. ÚVOD

K velmi důležitým požadavkům, které jsou kladeny na léčiva, patří v řadě případů zajištění rychlého nástupu účinku, dostatečně výrazného farmakologického efektu a co nejmenšího výskytu nežádoucích vedlejších účinků léčiva na organismus. Podle povahy léčiva lze toho dosáhnout použitím různých lékových forem.

V posledních letech se vývoj lékových forem výrazně urychlil. Velký průlom v této oblasti zaznamenávají relativně neprozkoumané medikované nanomembrány. Jejich problematice v souvislosti s ovlivněním liberace naproxenu jako nesteroidního antiflogistika se věnuje tato diplomová práce. Je zaměřena především na získání experimentálních výsledků umožňujících upřesnit charakterizaci zadaných nanomembrán a popsat uvolňování léčiva z nanomembrány.

Diplomová práce vznikla v přímé spolupráci s paralelně realizovanou prací Veroniky Vlkové, se kterou se výsledkově doplňuje. Přináší experimentální údaje, které jsou potřebné pro rozvíjení této tematiky na katedře farmaceutické technologie a budou využity při dalším výzkumu a vývoji léčivých přípravků.

2. ZADÁNÍ PRÁCE

2.1 V teoretické části

1. Popsat pojem rozpustnosti, klasifikaci a fyzikální metody ovlivnění rozpustnosti
2. V souvislosti s navazujícím experimentem charakterizovat účinnou látku naproxen

2.2 V experimentální části

1. Proměřit průběhy uvolňování naproxenu z polykaprolaktonové nanomembrány s rozdílným obsahem naproxenu jako účinné látky
2. Připravit hydrofilně laminované vzorky zadaných nanomembrán s naproxenem
3. Proměřit in vitro hodnoty vybraných parametrů liberace naproxenu z nanomembrán pokusně laminovaných za použití tří kapalin

2.3 Dílčí úkoly experimentu

1. Příprava kalibračních vzorků pro HPLC.
2. Orientační hodnocení chování naproxenu ve vodné fázi o třech výrazně odlišných pH
3. Příprava laminovaných nanomembrán
4. Realizace liberačních pokusů v liberačních komůrkách
5. Zvládnutí metodiky zpracování liberačních dat po HPLC stanovení léčiva
6. Nalezení parametrů liberace
7. Souhrnné vyhodnocení pokusů s formulací předběžných závěrů

Předpokládá se vypracování experimentální části v přímé spolupráci s paralelně probíhající diplomovou prací Veroniky Vlkové a následnou samostatnou prezentací pouze vlastních podkladů a výsledků.

Provedení převážné části HPLC stanovení bylo svěřeno Mgr. Petru Vrbatovi a Mgr. Pavlu Berkovi. Probíhalo v příslušné laboratoři katedry farmaceutické technologie.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Rozpustnost

Rozpustnost je vlastností pevných, kapalných a plyných látek. Po rozpuštění ve vhodném rozpouštědle se vytvoří jednofázová soustava, homogenní roztok. Rozpustnost látek v zásadě závisí na povaze rozpouštědla, na velikosti částic a v neposlední řadě také na teplotě a tlaku. Rozsah rozpustnosti je přímo úměrný saturační koncentraci. Saturace může označovat též nasycení; nasycený roztok – roztok, ve kterém se už další množství přidané látky nerozpouští.¹

Jako rozpouštědlo se nejčastěji používá kapalina, která může být složena z jedné nebo více látek, méně často pevná látka a velmi zřídka plynná látka.²

To, že se látka rozpouští, je výsledek souběžných a protichůdných procesů, procesů rozpouštění a procesu spojování (srážky částic), to znamená, že rozpouštění nastává pod dynamickou rovnováhou. Rovnovážný stav nastává, pokud oba procesy dále pokračují konstantní rychlostí, až vznikne nasycený roztok. Za určitých podmínek může dojít ke vzniku přesyceného roztoku (roztok obsahující více rozpuštěné látky, složky, než nasycený roztok), který je metastabilní.³

IUPAC* definuje rozpustnost jako poměr rozpuštěné látky v rozpouštědle a může být vyjádřena v jednotkách koncentrace, molality, atd.⁴

3.2 Jednotky rozpustnosti

Rozpustnost bývá vyjadřována nejčastěji jako koncentrace:⁵

- hmotnostní koncentrace: vyjadřuje podíl hmotnosti rozpuštěné látky a objemu vzniklého roztoku, jednotkou hmotnostní koncentrace je g/l
- molarita, molární koncentrace: vyjadřuje podíl látkového množství rozpuštěné látky a celkového objemu vzniklého roztoku, jednotkou je mol/dm³
- molalita, molální koncentrace
- hmotnostní molalita: vyjadřuje podíl látkového množství rozpuštěné látky a hmotnosti rozpouštědla, jednotkou je mol/kg;

* (International Union of Pure and Applied Chemistry; Mezinárodní unie pro čistotu a užitou chemii)

- objemová molalita je podíl látkového množství rozpuštěné látky a objemu rozpouštědla, jednotkou je mol/dm³
- molární zlomek: podíl látkového množství složky a součtu látkového množství všech složek směsi, bezrozměrná veličina

Obecně platí, že maximální množství látky, které se rozpustí v daném rozpouštědle, závisí na podmínkách rozpouštění.

U nasycených roztoků iontových sloučenin, s nízkou rozpustností, se stanovuje **součin rozpustnosti**, který je odvozen ze vztahu pro rovnovážné konstanty. Soli jsou velmi silné elektrolyty, které při rozpouštění plně disociují. Pokud přidáme do rozpouštědla větší množství soli, než odpovídá nasycenému roztoku, zůstane část soli nerozpuštěná a ustanoví se heterogenní rovnováha mezi nerozpuštěnou solí a jejími ionty. Součin rozpustnosti je dán součinem koncentrací hydratovaných iontů v nasyceném roztoku umocněných na jejich stechiometrické koeficienty a je závislý na teplotě.⁶

Dalším používaným měřítkem je **rozdělovací koeficient** n-oktanol/voda. Charakterizuje rozdílnou rozpustnost sloučenin v hydrofobním (n-oktanol) a hydrofilním rozpouštědle (voda). N-oktanol a voda jsou omezeně mísitelná rozpouštědla a dohromady tvoří dvoufázový systém. Rozdělovací koeficient udává míru lipofility (hydrofobnosti) dané látky. Vyšší hodnota rozdělovacího koeficientu ukazuje na větší ochotu látky se adsorbovat na povrchu pevných částic a akumulovat se v tukové tkáni.

3.3 Klasifikace rozpustnosti

3.1.1 Klasifikace rozpustnosti dle lékopisů

Český lékopis uvádí, že rozpustnost jednotlivých látek, z hlediska fyzikálně-chemických vlastností, se pohybuje v rozsahu od prakticky nerozpustných látek (například chlorid stříbrný ve vodě) až po velmi snadno rozpustné (například etanol ve vodě).⁷

Z farmakologického hlediska můžeme toto členění použít jen velmi omezeně. Neodráží terapeutickou dávku. K vyvolání terapeutického účinku stačí u některých léčiv (některé hormony) podat nízkou dávku, u jiných (antibiotika) je potřeba podat dávku vyšší. To může znamenat, že podáme-li malé množství těžce rozpustné ale vysoce účinné látky, pak látka se v gastrointestinální traktu (GIT) zcela rozpustí a vyvolá potřebný terapeutický efekt, ale pokud podáme vyšší množství rozpustnější ale málo účinné látky, požadovaný terapeutický efekt se nemusí dostavit.

Tabulka 1: Klasifikace rozpustnosti léčiv

Klasifikace	Objem rozpouštědla v ml na rozpuštění 1 g látky
Velmi snadno rozpustné	< 1
Snadno rozpustné	1-10
Dobře rozpustné	10-30
Mírně rozpustné	30-100
Těžce rozpustné	100-1000
Velmi těžce rozpustné	1000-10000
Prakticky nerozpustné	> 10000

ČL, EP, USP (United States Pharmacopoeia), BP (British Pharmacopoeia):
Lékopisy popisují rozpustnost podle Tabulky I, bez ohledu na použité rozpouštědlo.

3.1.2 Biofarmaceutický klasifikační systém (BCS)

Biofarmaceutický klasifikační systém rozděluje léčiva podle jejich rozpustnosti a střevní permeability do 4 tříd.⁸

Tabulka 2: BCS – biofarmaceutický klasifikační systém léčiv

Třída	Rozpustnost	Permeabilita
1	vysoká	vysoká
2	vysoká	nízká
3	nízká	vysoká
4	nízká	nízká

Léčivo je považováno za vysoce rozpustné, jestliže se jeho nejvyšší terapeutická dávka rozpustí ve 250 ml (nebo menším množství) vodného média o pH 1 až 7,5 (hodnota 250 ml byla stanovena na základě bioekvivalenčních studií, kterých se účastnili dobrovolníci a odpovídá objemu sklenice vody) a vysoce vstřebatelné, pokud se vstřebá nejméně z 90 procent. Klasifikace střevní permeability vychází z výsledku porovnávání propustnosti střeva po intravenózním nebo perorálním podáním léčiva.⁹

Perorální cestou je v Evropě a USA podáváno více jak 85 procent léčiv. Mezi výhody perorální cesty patří to, že je značně flexibilní, umožňuje totiž velkou variabilitu ve vytváření a využití lékových forem. Tento způsob podání léčiva je pro pacienta pohodlný, jednoduchý a odráží se pozitivně také na jeho compliance (zvyšuje se).¹⁰ Nevýhodou bývá špatná biodostupnost léčiva, zejména biologik. Biodostupnost léčiva závisí na mnoha faktorech – rozpustnosti léčiva ve vodě, schopnosti permeability, first-pass efektu a dalších. Nízká biodostupnost znamená podávání velkých dávek potřebných k dosažení terapeutického efektu. Nejčastější příčinou nízké biodostupnosti je špatná rozpustnost ve vodě (jako rozpouštědlo pro farmaceutické přípravky je používána velmi často) a nízká permeabilita. Velká řada léčiv patří buď mezi slabé kyseliny, nebo slabé zásady.

3.4 Metody zvyšování rozpustnosti

- a) Fyzikální modifikace – např. zmenšení velikosti částic (mikronizace, nanosuspenze), modifikace krystalické struktury (polymorfy, amorfní formy, kokrytalizace, disperze částic)...
- b) Chemická modifikace – např. změna pH, použití pufru, vytvoření komplexů...
- c) Smíšené metody – superkritický fluidní proces za použití pomocných látek jako jsou surfaktanty, solubilizéry, kosolventy...

3.4.1 Fyzikální modifikace

- 1) Zmenšování velikosti částic
- 2) Pevné disperze
- 3) Nanosuspenze
- 4) Kryogenní metody
- 5) Krystalové inženýrství

1) Zmenšování velikosti částic

Zmenšením velikosti částic dojde ke zvětšení povrchu částic a tím ke zvětšení plochy pro interakce s rozpouštědlem a tedy ke zvýšení rozpustnosti. Mezi základní metody zmenšování částic patří drcení, různé typy mletí a sprejové sušení.¹¹ Během těchto procesů dochází působením mechanické síly k rozdrobňování látky. Výhodou těchto metod je jejich reprodukovatelnost, ekonomičnost a efektivnost. Nevýhodou je teplotní stres (vzniká v průběhu rozdrobňování), zvláště u termolabilních a nestabilních látek (nebezpečí

znehodnocení látky) a v neposlední řadě samotná mechanická síla, která může produkt degradovat.

Další metodou používanou ke zmenšení velikosti částic je metoda mikronizace. Cílem této metody je získat velmi malé částice s velkým povrchem. Procesem mikronizace dochází ke zvýšení rychlosti rozpouštění látky a tím se docílí vyšších plasmatických hladin léčiva v krvi. Ke zmenšení velikosti částic se používají mlýny, pro mletí v pevném stavu - kladivové, oscilační, kulové (částice v desítkách μm) nebo účinnější tryskové mlýny (částice $1\ \mu\text{m}$ až $10^{-1}\ \mu\text{m}$)¹², pro mletí v mokřém stavu – kulové, koloidní nebo perlové mlýny (suspenze léčivé látky se protlačí přes rotující kolonu kuliček o rozměrech pod 1mm a vznikne suspenze s velikostí částic od stovek nm do $1\ \mu\text{m}$).¹³

Těmito metodami dochází ke zvyšování rozpustnosti léčiv (např. u griseofulvinu, progesteronu, spironolaktonu, fenobarbitalu.), zlepšení absorpce léčiva v trávicím traktu, ale také se zvyšuje biodostupnost léčiva a jeho terapeutický efekt.^{14,15}

2) Pevné disperze

Termín „pevné disperze“ označuje skupinu produktů v pevném skupenství, které se skládají alespoň ze dvou různých komponentů – hydrofilní matrix (nejčastěji polyvinylpyrrolidon, PVP, Povidon, polyethylenglykol, PEG) a hydrofobního léčiva a dále tenzidu (surfaktanty – polysorbát 80, dokosylát sodný, laurylsulfát sodný). Princip přípravy pevných disperzí spočívá v tom, že účinná látka je dispergována v prostředí pomocné látky (dobře rozpustný polymer – PVP, HPMC, kopolymer derivátů kyseliny akrylové, PEG).¹⁶ Vzniklá disperze je rozpustnější než sama krystalická látka. Rozlišujeme dva typy pevných disperzí – heterogenní (pokud dispergovaná látka zůstane oddělena v tuhém stavu) a homogenní (pokud dispergovaná látka vytvoří molekulární nebo iontovou disperzi).¹⁷

Příkladem pevné disperze je léčivo celecoxib s PVP. Vytvořením pevné disperze se zvyšuje rozpustnost léčiva, absorpce a terapeutický efekt.¹⁸

Metody:

a) Hot-Melt metoda

Při této metodě je směs léčiva a ve vodě rozpustného nosiče vystavena vysokým teplotám a poté zchlazena v ledové lázni až do ztuhnutí. Následně dochází k rozdrčení produktu, přesetí přes síto a poté nastává proces tabletování.

Výhodou této metody je její jednoduchost a ekonomičnost. Léčivo a hydrofilní nosič musí být vzájemně mísitelné a termostabilní (směs je vystavována vysokým i nízkým teplotám).¹⁹

b) Evaporace rozpouštědla

Směs léčiva a ve vodě rozpustného nosiče se nejprve rozpustí ve vhodném organickém rozpouštědle a pak, za sníženého tlaku (vakuum), se rozpouštědlo odpaří a vznikne tuhý roztok (např. vysoce lipofilní beta-karoten v povidonu).^{11,15} Celý proces je prováděn za nízké teploty (vyžadována pro odpařování organických rozpouštědel) a tudíž nedochází k rozkladu směsi v důsledku vysoké teploty. Nevýhody metody jsou spojeny s vysokými náklady na přípravu preparátu, odstraněním zbytku organického rozpouštědla, možným nepříznivým efektem rozpouštědla na stabilitu léčiva a nebezpečím vytvoření krystalů.²⁰

c) Hot-Melt extruze

Tato metoda zvyšování rozpustnosti léčiv je velmi podobná metodě *Hot-Melt* s tím, že intenzivní promíchávání směsi je prováděno pomocí extruderu a konečné formování tvaru probíhá bez předchozího drcení. Není vhodná pro termolabilní látky, neboť v extruderu vzniká vysoké teplo.²¹

3) Nanosuspenze

Technologie nanosuspenze byla vyvinuta pro hydrofobní léčiva. Je aplikovatelná na špatně rozpustná léčiva jak ve vodě, tak v oleji. Farmaceutická nanosuspenze je dvojfázový systém skládající se z nanočástic (velikost částic 200 až 600 nm) stabilizovaných surfaktanty. Umožňuje podávání léčiv nejen perorální a topickou cestou, ale také parenterální a pulmonální cestou.^{22,23}

Metodami tvorby nanosuspenze jsou precipitační technika, mletí, vysokotlaká homogenizace ve vodě, vysokotlaká homogenizace v nevodném médiu, kombinace precipitace a vysokotlaké homogenizace.^{24,25}

a) Precipitace

Léčivo je rozpuštěno v rozpouštědle (solvent), následně je přidána látka (antisolvent), ve které je produkt nerozpustný a dojde k vysrážení krystalů. Léčivo musí být rozpustné alespoň v jednom rozpouštědle, které je mísitelné s antisolventem. Výhodou precipitace je použití jednoduchých a levných zařízení, ale musí se dát pozor, aby rostoucí částice nebyly

větší a neměly velikost mikročástic. Tato metoda zvyšování rozpustnosti není vhodná pro léčiva, která jsou špatně rozpustná ve vodném i nevodném médiu.²⁶

Používají se nanosuspenze danazolu a naproxenu. U těchto léčiv došlo, vytvořením nanosuspenze ke zvýšení biodostupnosti a rychlosti rozpouštění.²⁷

b) Mletí

Komora pro mletí je složena z mlecího média, vody, léčiva a stabilizačního činidla. Po několik dnů (2 až 7dnů) se provádí mletí vysokou rychlostí. Mlecí médium je složeno ze skla a oxidu zirkoničitého nebo silně zesíťované polystyrenové pryskyřice. Tímto procesem vznikají mikročástice, které jsou rozbitím upraveny na velikost nanočástic.²⁵

c) Vysokotlaká homogenizace

Vysokotlaká homogenizace je používána pro přípravu nanosuspenzí léčiv špatně rozpustných ve vodě. Vysokotlaký homogenizátor se skládá z čerpadla a homogenizačního ventilu. Suspenze léčiva a surfaktantu pod tlakem přechází přes ventil.

Princip metody je založen na kavitaci (vznik dutin při poklesu tlaku) ve vodné fázi. Kavitační síly uvnitř částic jsou dostatečně velké na to, aby došlo k rozrušení mikročástic na nanočástice.²⁸

Touto metodou, tedy zmenšením velikosti částic pomocí vysokotlakého homogenizátoru, byla zvýšena rozpustnost spironolakton, budesonid, omeprazol.^{29,30,31}

d) Kombinace precipitace a homogenizace

Při precipitaci mají nanočástice tendenci k pokračování růstu až do velikosti mikrokystalů. Proto je výhodné zkombinovat dva procesy – precipitaci a homogenizaci.

4) Kryogenní metody

Kryogenní metody byly vyvinuty pro zvýšení rozpustnosti na základě vytvoření (za velmi nízké teploty) nanostruktury amorfního léčiva s vysokým stupněm porozity. Amorfní formy látek jsou lépe rozpustné, než krystalické .

Sprejové mražení na kryogenní kapalině (Spray Freezing onto Cryogenic Fluids)

Léčivo a nosič (například mannitol, maltosa, laktosa) jsou rozpuštěny ve vodě a rozprašovány nad hladinou fluorokarbonového chladiva. Toto chladivo je při normálních atmosférických podmínkách plynné, kondenzuje při teplotách nižších než -26°C.³²

Sprejové mražení v kryogenní kapalině (Spray Freezing into Cryogenic Liquids)

Touto technologií dochází k vytváření amorfních nanostrukturních agregátů práškových léčiv s velkým povrchem a dobrou smáčivostí. Technologie je založena na přímých srážkách typu kapalina-kapalina mezi nasyceným roztokem a kryogenní tekutinou s výsledným účinným rozdrobněním do podoby mikrokapelek za zvýšené rychlosti mražení. Zmrazené částice jsou poté zbaveny rozpouštědla, lyofilizovány. Získán je suchý a sypký mikronizovaný prášek.³³

Sprejové mražení v páře nad kapalinou (Spray Freezing into Vapor over Liquid)

Metoda je založena na zmražení roztoku léčiva v páře kryogenní kapaliny a následném odstranění rozpouštědla. Tento proces vede k produkci částic s dobrou smáčivostí.³⁴

Ultrarychlé mražení (Ultra-Rapid Freezing)

Nová kryogenní technologie produkující nanostrukturní částice s obrovským povrchem a požadovanou morfologií využívá pevné kryogenní substance. Aplikací roztoku léčiva na povrch pevného kryogenního substrátu dochází k okamžitému mražení a následně k lyofilizaci (pro odstranění rozpouštědla). Výsledkem je mikronizované práškové léčivo se zvýšenou rozpustností.³⁵

3.4.2 Chemická modifikace - Inkluzní komplexy

Rozpustnost těžce rozpustné léčivé látky lze zvýšit tvorbou komplexů, inkluzních komplexů. Zvýšení rozpustnosti umožňují také zvýšení biodostupnosti léčiva.

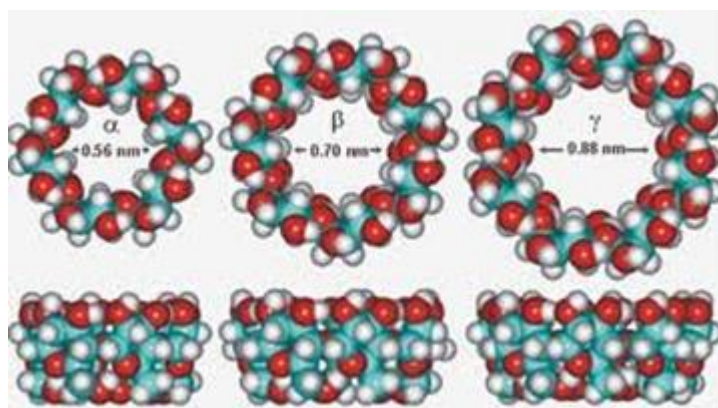
Inkluzní komplex je vytvořen vložením nepolární molekuly (označovaná jako host) do dutiny jiné molekuly nebo skupiny molekul (hostující molekula, hostitel).

Nejznámějšími molekulami, vystupující jako hostitelé, jsou molekuly cyklodextrinu (CD). Jsou to neredukující, krystalické, ve vodě rozpustné oligomery, konkrétně α -cyklodextrin ze šesti glukosových zbytků v kruhu, β -cyklodextrin ze sedmi glukosových zbytků v kruhu a γ -cyklodextrin z osmi glukosových zbytků (D-glukosy) v kruhu.³⁶ Monomery glukosy jsou v CD spojeny do kruhu, tvar molekuly se tudíž znázorňuje jako dutý, dosti plochý, komolý kužel se středovou dutinou otevřenou na obou stranách.³⁷

Díky své struktuře a tvaru molekuly mají schopnost vytvářet s léčivy inkluzní komplexy tím, že se do jejich centrální dutiny vklíní organická molekula léčiva, nebo iont. Čím více molekul glukosy CD obsahuje, tím je dutina větší a je schopna pojmout i větší

struktury molekul. Dutina má hydrofobní povahu, tudíž CD tvoří inkluze s lipofilními molekulami jinak těžce rozpustnými ve vodě, které se tak tak solubilizují.

Léčivá látka se obvykle z komplexu snadno a úplně uvolní, takže komplexace přiměřeným množstvím CD zpravidla zvyšuje biologickou dostupnost léčiva.³⁸



Obr. 3.1: Struktury β -cyklodextrinů³⁸

Existují tři metody tvorby komplexů:

1) Hnětací metoda

Metoda založena na impregnaci cyklodextrinu velmi malým množstvím vody. Vznikne pasta, do které se přidá léčivo a směs se míchá, pomocí třenky a pistilu, po určitý čas, aby došlo ke správné homogenizaci. Následuje sušení a prosívání.³⁹

2) Lyofilizační

Tato metoda (lyofilizace, mrazová sublimace) je využívána pro získání porézního, amorfního prášku s vysokým stupněm interakcí mezi léčivem a cyklodextrinem. Ze soustavy (léčivo, cyklodextrin, rozpouštědlo) je rozpouštědlo uvolňováno za sníženého tlaku z pevného skupenství do skupenství plynného. Zbytek soustavy (léčivo a cyklodextrin) zůstává v pevném skupenství a prochází mrazovým sušením za sníženého tlaku. Po odstranění rozpouštědla zůstávají v soustavě kanálky, kterými voda proniká snadněji do lyofilizátu a dochází k rozrušení a následně k rozpuštění struktury.⁴⁰

Lyofilizace se nejčastěji používá pro výrobu suchých injekcí.

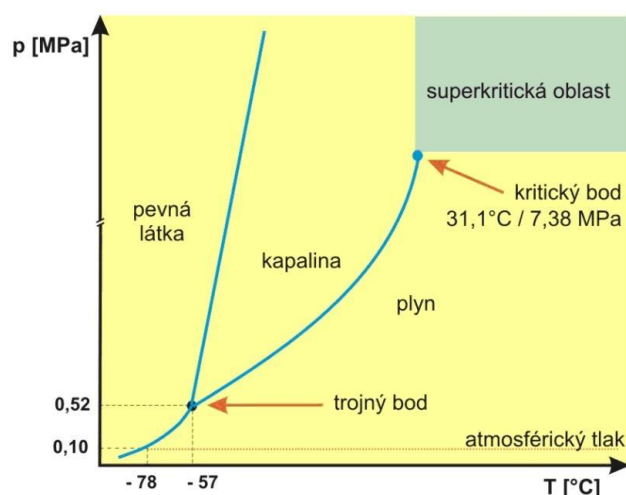
3.) Mikrovlnná (ozařování pomocí mikrovln)

Léčivo a cyklodextrin (v přesném poměru) jsou rozpuštěny v definovaném poměru vody a organického rozpouštědla v baňce s kulatým dnem. Směs je vystavena mikrovlnnému záření (1 až 2 min; 60 °C) ve speciálním zařízení. Po dokončení reakce se přidá další množství směsi rozpouštědel, aby došlo k reakci zbylého volného léčiva a cyklodextrinu. Vzniklá sraženina se odfiltruje a následuje sušení ve vakuu při teplotě 40 °C.⁴¹

3.4.3 Smíšené metody

1.) Supekritické kapaliny, SCF

Princip metody je založen na změně velikosti částic cestou krystalizace ze superkritických kapalin. Superkritické kapaliny jsou kapaliny, jejichž teplota a tlak je vyšší, než hodnota jejich kritické teploty a kritického tlaku. Vlastnosti superkritických kapalin se pohybují mezi plynem a kapalinou, mají viskozitu podobnou plynům a hustotu blízkou kapalinám.



Obr. 3.2: Diagram oxidu uhličitého (superkritické CO₂ existuje za tlaků vyšších než 7,38 MPa a teplot nad 31,30 °C)⁴²

Poblíž kritických hodnot jsou superkritické kapaliny vysoce stlačitelné a může docházet ke změně hustoty (hustota může klesat s nepatrným zvýšením teploty) a rozpustnosti (blízko kritické teploty klesá a poté opět roste).

Jakmile jsou částice solubilizovány, může nastat proces rekrystalizace a zmenšování velikosti částic (částice velikosti 5-2000 nm).

Například antipyretikum paracetamol můžeme v jeho mikrokryсталické formě získat tím, že se jeho roztok v acetonu nastříkuje do superkritického CO₂ a v závislosti na podmínkách získáme jehlicovité až sférické krystaly s rozměrem částic pod 1 μm.^{43,44}

2.) Micelární solubilizace

Je to metoda, založena na inkorporaci léčivé látky do micelárního komplexu, tvořeného tenzidy (surfaktanty). Tyto povrchově aktivní látky zvyšují rozpustnost lipofilních léčiv ve vodném médiu, mají také stabilizační vliv na suspenze a mikroemulze léčiv a zvyšují smáčivost pevných částic.

K vytvoření micel je potřeba malé množství tenzidu, které je dáno kritickou micelární koncentrací (CMC). Při jejím překročení dojde k vytvoření micelárního komplexu obsahujícího léčivo. Pokud by došlo ale k velmi vysokému překročení, může se to projevit nežádoucí agregací a tím i změnou reologických vlastností roztoku. Solubilizace tenzidy je také možná při nižší než kritické micelární koncentraci (solubilizovaná látka se sama podílí na stavbě micely).

Určité množství tenzidu umožňuje solubilizaci omezeného množství nerozpustné látky a to množství se vyjadřuje maximální aditivní koncentrací (ovlivňuje ji teplota, hodnota disociační konstanty solubilizované látky a její molekulová hmotnost, polarita, hodnota HLB...)

Pokud je léčivá látka nepolární, ukládá se mezi nepolární části molekul, blíže ke středu micely. Látka amfifilního charakteru se orientuje v micely stejně, jako molekuly tenzorů a molekuly polárních látek se váží na povrch micely, kde se také nachází hydrofilní (polární) části molekul solubilizátorů.

Běžně používanými jsou neionické tenzidy, například polysorbáty, polyethoxylované vyšší mastné kyseliny.⁴⁵

Příkladem špatně rozpustných léčiv, jejichž rozpustnost se zvyšuje micelární solubilizací, jsou antidiabetika gliklazid, glipizid, repaglinid, pioglitazon, rosiglitazon a další.⁴⁶

3.) Hydrotropie

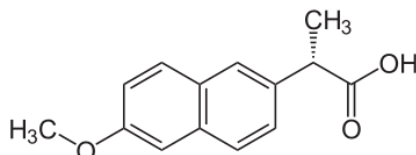
Jedná se o solubilizační proces, pomocí něhož přidáním většího množství sekundárně rozpuštěné látky se zvýší rozpustnost primárně rozpuštěné látky. Rozpustnost se zvyšuje za pomoci hydrotropních látek, jako jsou např. organické soli. Princip metody je založen na

vytváření komplexu mezi hydrotropní látkou (benzoát sodný, acetát sodný, alginát sodný, urea) a špatně rozpustnou látkou.^{47,48}

Mezi hydrotropy řadíme ethanol, aromatické alkoholy (resorcinol, katechol), alkaloidy (kofein, nikotin) a další.⁴⁹

3.5 Naproxen

Naproxen je nesteroidní protizánětlivá látka.



Obr 3.3 Struktura Naproxenu⁵⁰

Jedná se o naftylpropionovou kyselinu. Je to bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v methanolu, mírně rozpustný v etheru.

Farmakochemicky se řadí se mezi neselektivní inhibitory COX. V organismu se váže na albumin a je metabolizován převážně s CYP2C9, ale také cestou CYP1A2 a CYP2C8. Biologický poločas naproxenu se pohybuje od 14 h do 24 h (synoviální tekutina).

Mezi indikace naproxenu patří revmatické onemocnění. Na trhu je dostupný jako perorální suspenze nebo v přípravcích postupně uvolňujících léčivou látku. Podává se 1 až 2 krát denně.⁵¹

Patří mezi antiflogistika šetrná k trávicímu traktu. Přesto mezi nežádoucí účinky patří krvácení v horních částech gastrointestinálního traktu, vzácně byly objeveny alergické reakce (alergická pneumonie), leukocytoklastické vaskulitidy (zánět krevních cév projevující se jako purpura, mnohočetné tečkovité krvácení do tkání) a pseudoporfyrie (fototoxická dermatitida).⁵²

3.6 Propylenglykol jako hydrofilní pojivo

Propylenglykol, (RS)–propan-1,2-diol je čirá, viskózní kapalina mísitelná s vodou, ethanolem, chloroformem a etherem, nemísitelná s oleji. V organismu se velmi dobře metabolizuje a vylučuje. Působí baktericidně. Řadí se mezi významná farmaceutická rozpouštědla mnoha léčiv (až do 70% ve směsi s vodou). Je často využíván v inhalačních,

perorálních i parenterálních roztocích nebo jako humektantní přísada (vlhčivo) v externech.

Propylenglykol jsme použily jako hydrofilní pojivo při vrstvení nastříhaných membrán.

3.7 Glycerol 85% jako hydrofilní pojivo

Glycerol, propan-1,2,3-triol je viskózní tekutina (syrupovitý vzhled), čirá, bezbarvá a sladké chuti. Je mísitelný v každém poměru s vodou a ethanolem 96%. Používá se jako rozpouštědlo ve vodných a lihových směsích, které při malých koncentracích glycerolu zvyšují rozpustnost a stálost některých nerozpustných nebo velmi těžce rozpustných léčiv. Mezi jeho vlastnosti také patří hygroskopičnost (snižuje vysychavost krémů, podporuje plasticitu zubních past apod.). Může se také aplikovat vnitřně 100 až 200g denně. Také glycerol jsme použily jako hydrofilní pojivo.

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité látky

Acetonitril pro HPLC	LACH-NER, Neratovice
Dihydrogen fosforečnan draselný (ČL 2009)	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Glycerol (ČL 2009)	Penta, Praha
Hydroxid sodný (ČL 2009)	Penta, Praha
Chlorid sodný (ČL 2009)	Penta, Praha
Kyselina fosforečná R	Penta, Praha
Kyselina chlorovodíková 1mol/l RS	Penta, Praha
Kyselina octová	Penta, Praha
Naproxen	Sigma Aldrich, Praha
Polyethylenglykol 300	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Trometamol (ČL 2009)	Dr. Kulich Pharma, Hradec Králové
Voda čištěná (ČL 2009)	FaF UK, Hradec Králové
Voda pro HPLC ultračistá	FaF UK, Hradec Králové

Všechny suroviny byly podle deklarací výrobců a dodavatelů kvality lékopisné nebo vyšší. Čištěná voda a voda pro HPLC pochází z centrální přípravy na FaF UK a nebyla podrobena lékopisným zkouškám.

Testované nanovlákněné membrány byly získány z firmy Elmarco s.r.o., Liberec s touto charakterizací:

Polymer: polykaprolakton zesíťný

Substrát: PP spunbond modrý

Naproxen: 5%, 15%, 30% na sušinu

Polykaprolakton, naproxen 30 %, plošná hmotnost 5,3 g/m²,

průměr nanovláken 169,8 nm

Polykaprolakton, naproxen 15 %, plošná hmotnost 5,5 g/m²

průměr nanovláken 169,8 nm

Polykaprolakton, naproxen 5 %, plošná hmotnost 5,3 g/m²,

průměr nanovláken 169,8 nm

4.2 Přístroje

Analytické váhy Kern 440-45N	Kern Sohn, Německo
Digitální pH metr Gryf 209 L	Gryf HB s.r.o., Česká Republika
Elektronická míchačka Variomag	Labortechnik, Německo
HPLC sestava HP 1200 series	Agilent Technologies, USA
Magnetické míchadlo, Telesystem	Labortechnik, Německo
Ultrazvuková lázeň VČ 300259	Tesla, Vráble
Vodní lázeň, Grant JB5	Grant Instruments, Velká Británie
Termostat BT50	Laboratorní přístroje, Česká Republika
Sestava HPLC Agilent Techn.1200	

- Isokratické čerpadlo: Iso Pump G1310A
- UV/VIS detektor: VWD G1414B s proměnnou vlnovou délkou
- Kolony: Zorbax Eclipse plus C18, oktadecylsilanový sorbent, průměr 4,6 mm, délka 150 mm, zrnitost 5 mikrometrů
- Mobilní fáze: fosfátový pufr pH 2,5: acetonitril (55:45)
- Software: ChemStation 1.22

4.3 Pracovní postupy a metody

4.3.1 Příprava fosfátového pufru, pH 2,5

Fosfátový pufr o pH 2,5 dle ČL 2010, použit byl jako součást mobilní fáze pro HPLC stanovení naproxenu.

Složení:

Acetonitril R	900,0 ml
Dihydrogenfosforečnan draselný R (1,36g/l)	1,50 g
Kyselina fosforečná R	8,0 ml
Voda pro HPLC	1100,0 ml

Postup:

V 1100 ml vody pro HPLC se rozpustí 1,50 g dihydrogenfosforečnanu draselného. Pomocí čisté kyseliny fosforečné se následně upraví acidita roztoku na pH 2,5. Nakonec se přidá 900 ml acetonitrilu, vznikne 2000 ml mobilní fáze voda: acetonitril v poměru 55:45.

4.3.2 Chromatografické podmínky

Nástřik vzorku byl na autoinjektoru nastaven na 20 μ l, průtok mobilní fáze činil 1,5 ml/min, teplota kolony byla nastavena na 30°C, doba separace byla omezena na 7,5 min, vlnová délka pro stanovení byla nastavena 230 nm.

4.3.3 Ověření chování naproxenu v silně kyselém pH

Příprava umělé žaludeční šťávy o pH 1,5 (simulace pH prostředí žaludku)

Umělou žaludeční šťávu R o pH 1,5 jsme použily jako akceptorovou fázi pro zjištění chování nanovlákných membrán a rozpustnosti naproxenu v prostředí žaludku.

Složení:

Chlorid sodný R	2,0 g
Kyselina chlorovodíková 1mol/l RS	8,0 ml

Postup:

Chlorid sodný se rozpustí ve vodě R. Přidá se 0,8 ml kyseliny chlorovodíkové a zředí se vodou na 1000 ml. K dispozici byla HCl 35%, musely jsme ji zředit vodou R v poměru 1: 9; konkrétně 8 ml kyseliny a 72 ml vody R.

Byly připraveny tyto disperze:

- 1.) 15 mg naproxenu ve 100 ml žaludeční šťávy (15 mg%)
- 2.) 10 mg naproxenu ve 100 ml žaludeční šťávy (10 mg%)
- 3.) 5 mg naproxenu ve 100 ml žaludeční šťávy (5 mg%)
- 4.) 2 mg naproxenu ve 100 ml žaludeční šťávy (2 mg%)
- 5.) 1 mg naproxenu ve 100 ml žaludeční šťávy (1 mg%)

Ověření chování naproxenu v mírně kyselém pH 4,2

Příprava pufru pH 4,2

Složení:

Kyselina octová	3,02g
Chlorid sodný	3,86g
Hydroxid sodný	4,0 ml
Voda čištěná	ad 1,00 ml

Postup:

3,00 g kyseliny octové se rozpustí v přibližně 900 ml čištěné vody. Přidá se 3,86 g chloridu sodného a titruje se silnou bází (hydroxid sodný) na pH 4,2. Nakonec se doplní čištěnou vodou na 1 000 ml.

Byly připraveny tyto základní disperze v pufru pH 4,2:

- 1.) Disperze 10 mg naproxenu v 100 ml (10mg%)
- 2.) Disperze 5 mg naproxenu v 100 ml (5mg%)
- 3.) Disperze 2,5mg naproxenu v 100ml (2,5mg%)

4.3.5 Ověření chování naproxenu v mírně alkalickém pH 7,7**Příprava TRIS pufru pH 7,7 (simulace pH prostředí střeva)****Složení:**

Trometamol	6,06g
Chlorid sodný	2,53g
Kyselina chlorovodíková 35%	0,4 ml
Voda čištěná	ad 1000 ml

Postup:

6,06 g trometamolu a 2,53 g chloridu sodného se rozpustí v přibližně 500 ml čištěné vody. Hodnota pH se zjistí pomocí pH metru a za pomoci kyseliny chlorovodíkové se hodnota pH upraví na 7,7 (25°C).

Byly připraveny tyto disperze:

- 1.) Roztok 10 mg naproxenu v 100 ml střevní šťávy (10 mg%)
- 2.) Roztok 5mg naproxenu v 100, ml střevní šťávy (5 mg%)
- 3.) Roztok 2,5 mg naproxenu v 100 ml střevní šťávy (2,5 mg%)

4.4 Práce s nanomembránami**4.4.1 Eluce nanovláknenných membrán s naproxenem**

Membrány jsme nastříhaly na obdélníčky velikosti 4 cm x 5cm (20 cm²) a na noc uložily do exikátoru, abychom zajistily jejich vysušení. Nastříhané obdélníčky jsme poté zvážily na analytických vahách (čisté membrány bez obalových vrstev) a zaznamenaly jsme jejich přesné navážky.

Byly zaznamenány a současně kódovány tyto hodnoty navážek:

$n1a(5\%) = 0,008 \text{ g}$	$n1a(15\%) = 0,010 \text{ g}$	$n1a(30\%) = 0,011 \text{ g}$
$n1b(5\%) = 0,010 \text{ g}$	$n1b(15\%) = 0,009 \text{ g}$	$n1b(30\%) = 0,011 \text{ g}$
$n2a(5\%) = 0,009 \text{ g}$	$n2a(15\%) = 0,010 \text{ g}$	$n2a(30\%) = 0,011 \text{ g}$
$n2b(5\%) = 0,008 \text{ g}$	$n2b(15\%) = 0,010 \text{ g}$	$n2b(30\%) = 0,012 \text{ g}$

Práce vyžadovala opatrnost a zručnost, aby při práci v chirurgických rukavicích nedošlo k poškozování membrán.

Membrány jsme opatrně pinzetou přenesly do vialek o objemu 20 ml s malým magnetickým míchadlem a doplnily akceptorovou fází vytemperovanou na 37°C (cca 20ml pufru, pH 7,7, střevní šťáva). Poté jsme vialky vložily do vodní lázně vytemperované na teplotu těla a nechaly macerovat za stálého mírného míchání.

Ve stanovených časových intervalech jsme odebíraly 0,6 ml vzorku pomocí injekční stříkačky do malých vialek, které jsme zároveň doplňovaly pufrům. Odběry probíhaly v přesně stanovených časových intervalech (po 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360 minutách). Takto upravené vzorky jsme dávaly do lednice a následně nechaly proměřit pomocí HPLC (Mgr. P. Berka, Mgr. P. Vrbata). Totéž jsme provedly s druhou sadou vzorků, celkem jsme měly k dispozici 96 vzorků.

Po vyhodnocení chování membrán v prostředí střevní šťávy o pH 7,4 při teplotě těla (37°C) jsme přešly ke zkoumání chování membrán po jejich laminaci do vícevrstevných soustav.

4.4.2 Vrstvení membrán

Po nastříhání membrán na malé obdélníčky o obsahu 20 cm² (obdélníčky jsme poté zvážily) jsme jednotlivé membrány ještě dále rozstříhaly na menší kousky a postupně vrstvily na sebe pomocí různých hydrofilních pojiv.

Schéma rozstříhání a vrstvení:

1 vrstva: obdélníček 4x5cm

2 vrstvy: obdélníček 4x5cm jsme rozstříhaly na polovinu a vznikly nám dva obdélníčky o rozměrech 2,5x4cm

4vrstvy: obdélníček 4x5cm jsme rozstříhaly na čtvrtiny a vznikly nám čtyři obdélníčky o rozměrech 2,5x2cm

8vrstev: obdélníček 4x5cm jsme rozstříhaly na osminy a vzniklo nám osm obdélníčků o rozměrech 1,25x2cm

Tento způsob stříhání jsme provedly u všech typů membrán. Vrstvení probíhalo pomocí různých hydrofilních pojiv.

4.4.5 Eluce nanovláknenných membrán s naproxenem po jejich hydrofilní laminaci

Používaly jsme nanomembrány o třech různých koncentracích.

Polymer: zesíťný polykaprolakton

Léčivo: Naproxen 5%, 15%, 30% na sušinu

Substrát: PP spunbond modrý

Membrány jsme nastříhaly na obdélníčky velikosti 4x5cm (20cm²) a na noc uložily do exikátoru, abychom zajistily jejich vyschnutí. Nastříhané obdélníčky jsme poté zvážily na analytických vahách (čisté membrány bez obalových vrstev) a zaznamenaly jsme jejich přesné navážky.

Před použitím hydrofilního pojiva **propylenglykolu** byly zaznamenány a současně kódovány tyto hodnoty navážek:

n1a(5%) = 0,009 g	n1a(15%) = 0,010 g	n1a(30%) = 0,011 g
n1b(5%) = 0,009 g	n1b(15%) = 0,011 g	n1b(30%) = 0,012 g
n1c(5%) = 0,009 g	n1c(15%) = 0,010 g	n1c(30%) = 0,011 g
n1d(5%) = 0,010 g	n1d(15%) = 0,011 g	n1d(30%) = 0,011 g
n2a(5%) = 0,008 g	n2a(15%) = 0,011 g	n2a(30%) = 0,012 g
n2b(5%) = 0,009 g	n2b(15%) = 0,010 g	n2b(30%) = 0,010 g
n2c(5%) = 0,009 g	n2c(15%) = 0,010 g	n2c(30%) = 0,011 g
n2d(5%) = 0,008 g	n2d(15%) = 0,010g	n2d(30%) = 0,010 g
n3a(5%) = 0,009 g	n3a(15%) = 0,011 g	n3a(30%) = 0,011 g
n3b(5%) = 0,008 g	n3b(15%) = 0,009 g	n3b(30%) = 0,009 g
n3c(5%) = 0,009 g	n3c(15%) = 0,011 g	n3c(30%) = 0,008 g
n3d(5%) = 0,010 g	n3d(15%) = 0,011 g	n3d(30%) = 0,009 g

Následovala laminace vzorků pomocí propylenglykolu (po předchozím nastříhání membrán na menší obdélníčky, viz výše.) Nastříhané díly membrány jsme položily na modrý podkladový spunbond, kterým byly původně membrány kryty. Po kápnutí propylenglykolu došlo k jejich okamžitému svaštění, pravděpodobně vlivem hydrostatických sil. Proto jsme musely zvolit jiný postup. Použily jsme Petriho misku, dno jsme pokryly propylenglykolem a pomocí pinzet jsme jednotlivé díly na sebe vrstvily pokládáním. Práce vyžadovala trpělivost a přesnost. Laminace membrán je velmi obtížná.

Takto upravené membrány jsme opatrně pinzetou přenesly do vialek o objemu 20 ml s malým magnetickým míchadlem a doplnily akceptorovou fází vytemperovanou na 37°C (20 ml pufru, pH 7,7, střevní šťáva). Poté jsme vialky vložily do vytemperované vodní lázně a nechaly eluovat za stálého mírného míchání.

Ve stanovených časových intervalech jsme odebíraly 0,6 ml vzorku pomocí injekční stříkačky do malých vialek, které jsme zároveň doplňovaly puftrem. Odběry probíhaly v přesně stanovených časových intervalech (po 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360 minutách).

Takto upravené vzorky jsme dávaly do lednice a následně nechaly proměřit pomocí HPLC. Totéž jsme provedly s druhou (rozstřížení na 1/2), třetí (rozstřížení na 1/4) a čtvrtou (rozstřížení na 1/8) sadou vzorků, celkem jsme měly k dispozici 288 vzorků.

V případě použití **glycerolu** jako hydrofilního pojiva byly zaznamenány a současně kódovány tyto hodnoty navážek:

n1a(5%) = 0,009 g	n1a(15%) = 0,011 g	n1a(30%) = 0,010 g
n1b(5%) = 0,009 g	n1b(15%) = 0,011 g	n1b(30%) = 0,010 g
n2a(5%) = 0,008 g	n2a(15%) = 0,010 g	n2a(30%) = 0,011 g
n2b(5%) = 0,009 g	n2b(15%) = 0,011 g	n2b(30%) = 0,010 g

Následovala laminace vzorků pomocí glycerolu (po předchozím nastříhání membrán na menší obdélníčky, viz výše.) Nastříhané díly jsme vrstvily v Petriho misce, která měla dno pokryté glycerolem. Díky vysoké viskozitě glycerolu zůstávaly díly membrány na hladině kapaliny. Pomocí tyčinek jsme je ponořily a došlo ke smočení z obou stran. Po přidání další vrstvy jsme postupovaly stejně, pomocí tyčinek.

Takto upravené membrány jsme opatrně pinzetou přenesly do vialek o objemu 20 ml s malým magnetickým míchadlem a doplnily akceptorovou fází vytemperovanou na 37°C

(20 ml pufru, pH 7,7, střevní šťáva). Poté jsme vialky vložily do vodní lázně vytemperované na teplotu těla a nechaly macerovat za stálého mírného míchání.

Ve stanovených časových intervalech jsme odebíraly 0,6 ml vzorku pomocí injekční stříkačky do malých vialek, které jsme zároveň doplňovaly puftrem. Odběry probíhaly v přesně stanovených časových intervalech (po 5, 10, 15, 30, 60, 120, 240, 360 minutách).

Takto upravené vzorky jsme dávaly do lednice a následně opět nechaly proměřit pomocí HPLC. Totéž jsme provedly s druhou sadou (rozstřížení na 1/8), první sada byla rozstříhána na 1/4, celkem jsme měly k dispozici 96 vzorků.

Po ukončení eluce byly některé vrstvy od sebe odděleny, ale většina z nich držela pohromadě.

4.4.6 Zpracování experimentálních dat

Výsledky z liberačních pokusů byly získány převedením dat generovaných softwarem ChemStation chromatografického zařízení Agilent 1200 do šablony programové aplikace Excelu a jejich následným zpracováním dle postupu, který je v laboratoři katedry farmaceutické technologie k dispozici.

Zpracování dat z ChemStation k převedení do permeační šablony prováděli

Mgr. Pavel Berka a Mgr. Petr Vrbata (katedra farmaceutické technologie).

V kapitole **5. Dokumenty** jsou v podobě 60 protokolů shrnuty informace z jednotlivých dílčích liberačních měření naproxenu z nanovlákných membrán.

Získané hodnoty z měření HPLC odpovídají nekorigovaným koncentracím c_{nk} . Pomocí programu byly tyto hodnoty standardizovaným postupem převedeny na korigovanou koncentraci c_k , která zohledňuje průběžný odběr vzorků, doplňování akceptorové fáze i její objem na počátku pokusu V_0 .

Následně jsou vždy získány hodnoty Q_t (množství naproxenu, uvolněné z membrány do akceptorové fáze) a $Q_{t (teor)}$, což je množství odečtené z regresní křivky.

Dílčím výsledkem je grafické vyjádření průběhu liberace, pro které bylo využito proložení logaritmickou nebo polynomičnou křivkou a získání hodnot fluxu J [$\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$] léčiva.

Vysvětlivky k protokolům

c_{nk} = nekorigovaná koncentrace

c_n = korigovaná koncentrace, zohledňuje průběžný odběr a doplňování akceptorové fáze

$Q_t = Q_{t(\text{exp})} [\mu\text{g}/\text{cm}^2]$ = skutečné množství látky, které se membránou o ploše 1cm^2 uvolní do akceptorové fáze

$Q_t [\mu\text{g}]$ = skutečné množství látky, které se uvolní membránou do akceptorové fáze

$Q_{t(\text{teor})} [\mu\text{g}/\text{cm}^2]$ = množství látky, které se uvolní membránou o ploše 1cm^2 do akceptorové fáze a odečtené z regresní křivky

Pro účely rozlišení jednotlivých membrán a prezentaci vzorků membrán v protokolech bylo zvoleno kódování, které vysvětluje následující příklad:

Kód 3D1nPG5% 1 znamená: 3D...třetí dávka,

1n ...první navážka,

PG...propylenglykol,

5%...obsah naproxenu,

1...dělení a laminace

5. DOKUMENTACE

Protokol 1

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 1D1nN5% 1

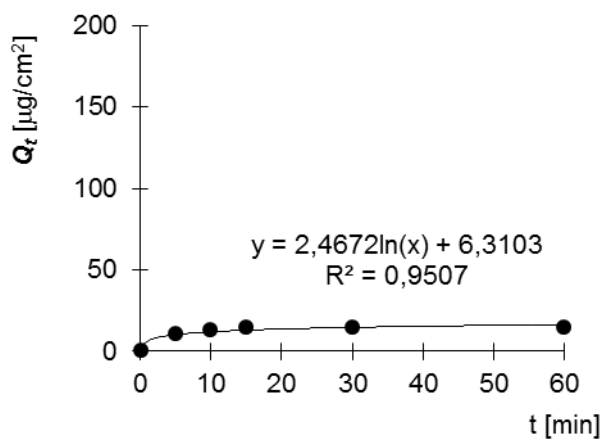
navážka: 8 mg

Měření: NAP 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,027	0,6	1,027	205,4	10,3
10	1,269	0,6	1,300	260,0	13,0
15	1,385	0,6	1,454	290,8	14,5
30	1,374	0,6	1,485	296,9	14,8
60	1,284	0,6	1,435	287,0	14,4
120	1,159	0,6	1,349	269,9	13,5
240	1,279	0,6	1,504	300,7	15,0
360	1,113	0,6	1,376	275,2	13,8

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	10,3	8,9
10	13,0	9,7
15	14,5	10,4
30	14,8	12,7
60	14,4	17,1



Protokol 2

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 1D2nN5% 1

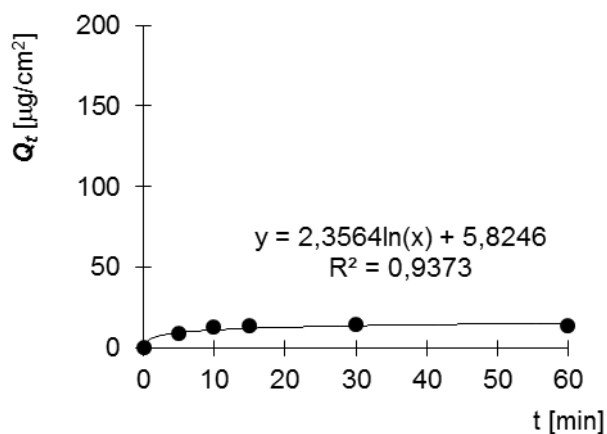
navážka: 10 mg

Měření: NAP 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	0,861	0,6	0,861	172,2	8,6
10	1,265	0,6	1,291	258,1	12,9
15	1,290	0,6	1,354	270,8	13,5
30	1,315	0,6	1,418	283,5	14,2
60	1,213	0,6	1,355	271,0	13,5
120	1,191	0,6	1,369	273,8	13,7
240	1,143	0,6	1,357	271,4	13,6
360	1,124	0,6	1,372	274,4	13,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	8,6	8,6
10	12,9	12,9
15	13,5	13,5
30	14,2	14,2
60	13,5	13,5



Protokol 3

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 1D1nN15% 1

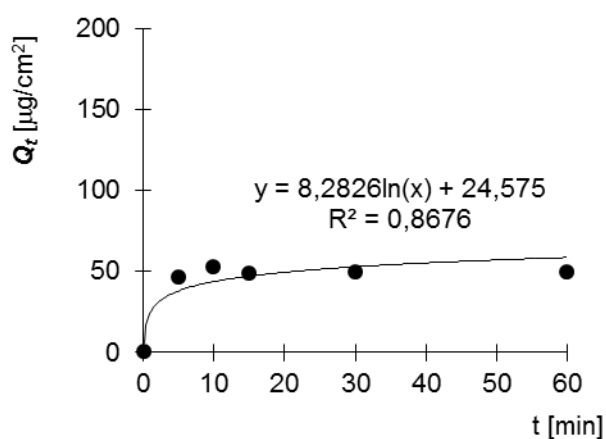
navážka: 10 mg

Měření: NAP 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	4,598	0,6	4,598	919,6	46,0
10	5,070	0,6	5,208	1 041,6	52,1
15	4,585	0,6	4,875	974,9	48,7
30	4,503	0,6	4,931	986,1	49,3
60	4,355	0,6	4,918	983,6	49,2
120	4,300	0,6	4,993	998,7	49,9
240	4,121	0,6	4,943	988,7	49,4
360	4,008	0,6	4,954	990,9	49,5

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	46,0	34,7
10	52,1	36,8
15	48,7	38,8
30	49,3	45,0
60	49,2	57,3



Protokol 4

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 1D2nN15% 1

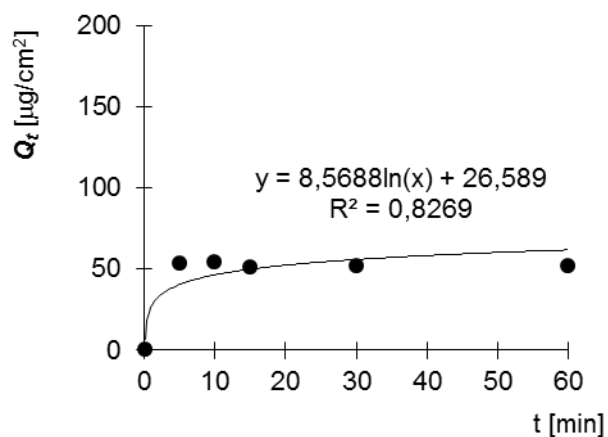
Navážk: 9 mg

Měření: NAP 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	5,308	0,6	5,308	1 061,6	53,1
10	5,237	0,6	5,396	1 079,3	54,0
15	4,780	0,6	5,096	1 019,3	51,0
30	4,681	0,6	5,141	1 028,2	51,4
60	4,534	0,6	5,134	1 026,9	51,3
120	4,370	0,6	5,106	1 021,2	51,1
240	4,264	0,6	5,131	1 026,3	51,3
360	4,098	0,6	5,094	1 018,7	50,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	53,1	37,5
10	54,0	39,5
15	51,0	41,5
30	51,4	47,4
60	51,3	59,4



Protokol 5

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 1D1nN30% 1

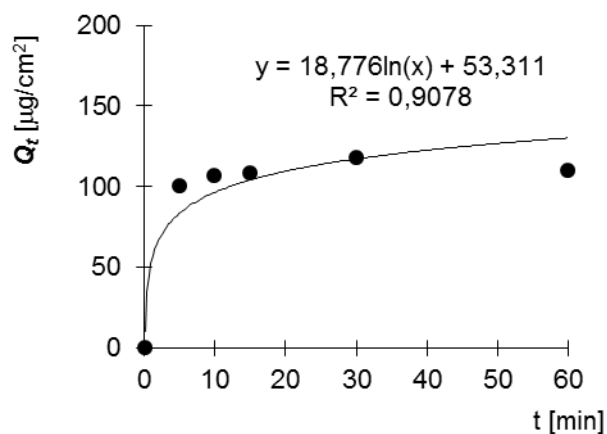
navážka: 11 mg

Měření: NAP 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	9,986	0,6	9,986	1 997,2	99,9
10	10,372	0,6	10,671	2 134,2	106,7
15	10,191	0,6	10,801	2 160,3	108,0
30	10,848	0,6	11,764	2 352,8	117,6
60	9,702	0,6	10,944	2 188,8	109,4
120	9,541	0,6	11,074	2 214,9	110,7
240	8,988	0,6	10,807	2 161,4	108,1
360	9,097	0,6	11,186	2 237,2	111,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	99,9	75,3
10	106,7	80,3
15	108,0	85,3
30	117,6	100,2
60	109,4	130,2



Protokol 6

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 1D2nN30% 1

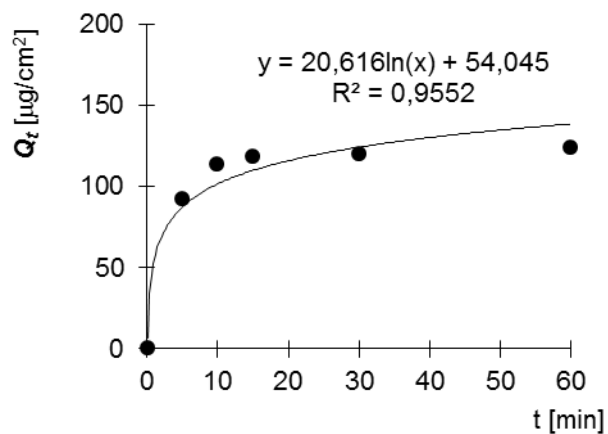
navážka: 11 mg

Měření: NAP 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	9,182	0,6	9,182	1 836,5	91,8
10	11,110	0,6	11,386	2 277,1	113,9
15	11,203	0,6	11,811	2 362,3	118,1
30	11,053	0,6	11,998	2 399,5	120,0
60	11,127	0,6	12,403	2 480,7	124,0
120	10,332	0,6	11,942	2 388,4	119,4
240	9,958	0,6	11,879	2 375,7	118,8
360	9,613	0,6	11,832	2 366,3	118,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	91,8	75,9
10	113,9	82,2
15	118,1	88,4
30	120,0	107,1
60	124,0	144,4



Protokol 7

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 2D1nN 5% 1

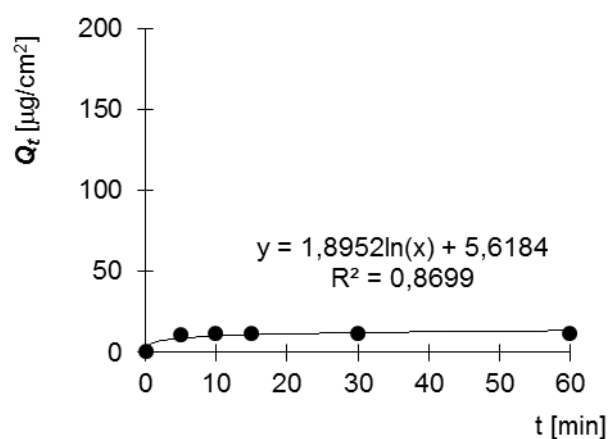
navážka: 9 mg

Měření: NAP 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	1,054	0,6	1,054	210,8	10,5
10	1,136	0,6	1,167	233,5	11,7
15	1,060	0,6	1,125	225,0	11,3
30	1,059	0,6	1,156	231,3	11,6
60	0,978	0,6	1,107	221,4	11,1
120	0,980	0,6	1,138	227,6	11,4
240	0,913	0,6	1,101	220,2	11,0
360	0,953	0,6	1,169	233,7	11,7

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		7,5
5	10,5	8,0
10	11,7	8,4
15	11,3	8,9
30	11,6	10,3
60	11,1	13,1



Protokol 8

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 2D2nN 5% 1

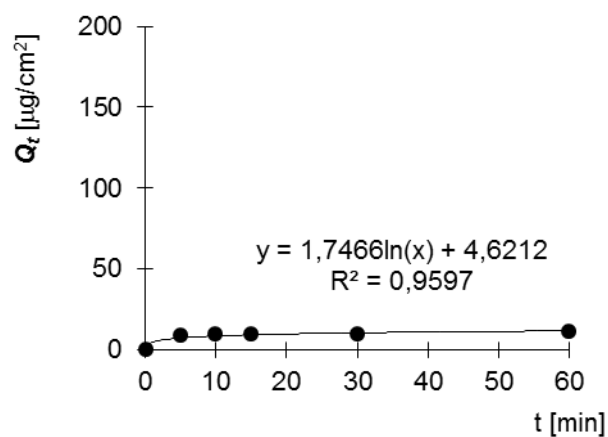
navážka: 8 mg

Měření: NAP 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	0,840	0,6	0,840	168,0	8,4
10	0,924	0,6	0,949	189,9	9,5
15	0,913	0,6	0,966	193,1	9,7
30	0,901	0,6	0,982	196,3	9,8
60	0,992	0,6	1,099	219,9	11,0
120	0,844	0,6	0,981	196,1	9,8
240	0,863	0,6	1,026	205,2	10,3
360	0,801	0,6	0,989	197,8	9,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	8,4	8,4
10	9,5	9,5
15	9,7	9,7
30	9,8	9,8
60	11,0	11,0



Protokol 9

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 2D1nN 15% 1

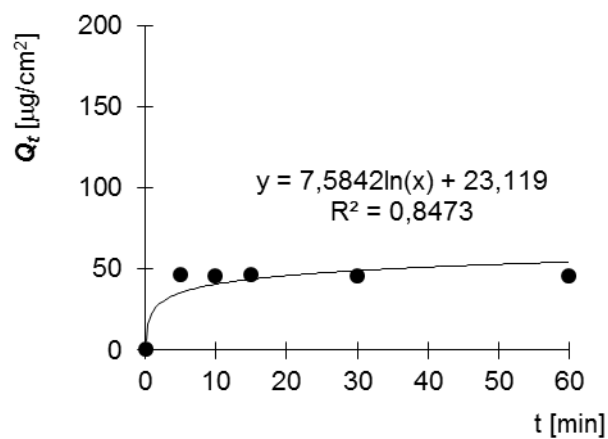
navážka: 10 mg

Měření: NAP 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	4,602	0,6	4,602	920,3	46,0
10	4,405	0,6	4,543	908,5	45,4
15	4,323	0,6	4,593	918,7	45,9
30	4,171	0,6	4,571	914,3	45,7
60	3,997	0,6	4,522	904,4	45,2
120	3,944	0,6	4,589	917,7	45,9
240	3,755	0,6	4,518	903,6	45,2
360	3,745	0,6	4,621	924,2	46,2

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		30,8
5	46,0	32,6
10	45,4	34,4
15	45,9	36,2
30	45,7	41,7
60	45,2	52,6



Protokol 10

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 2D2nN 15% 1

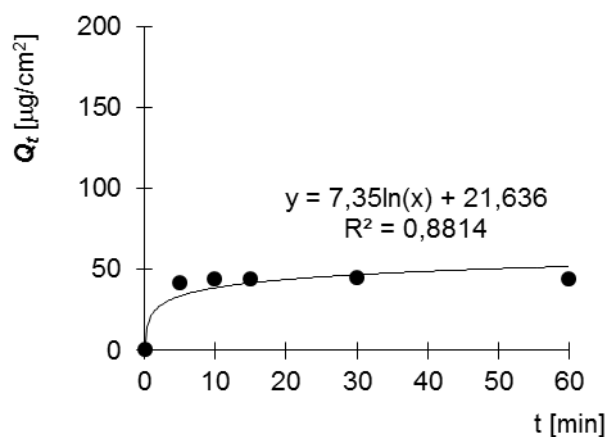
navážka: 10 mg

Měření: NAP 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	4,149	0,6	4,149	829,7	41,5
10	4,230	0,6	4,354	870,8	43,5
15	4,106	0,6	4,358	871,5	43,6
30	4,066	0,6	4,441	888,2	44,4
60	3,866	0,6	4,363	872,5	43,6
120	3,892	0,6	4,504	900,8	45,0
240	3,505	0,6	4,235	846,9	42,3
360	3,501	0,6	4,336	867,2	43,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		28,7
5	41,5	30,5
10	43,5	32,4
15	43,6	34,2
30	44,4	39,8
60	43,6	51,0



Protokol 11

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 2D1nN 30% 1

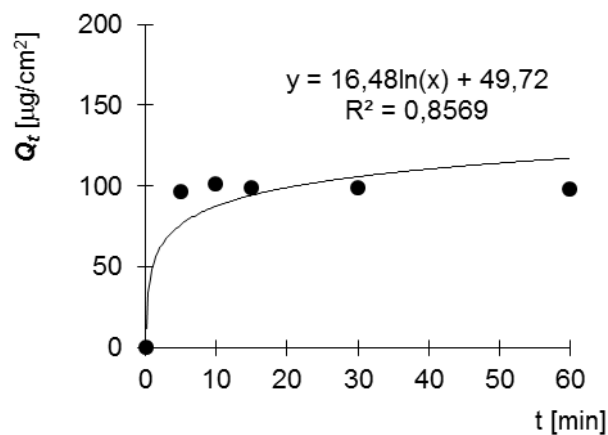
navážka: 11 mg

Měření: NAP 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	9,634	0,6	9,634	1 926,7	96,3
10	9,846	0,6	10,135	2 027,1	101,4
15	9,275	0,6	9,860	1 972,0	98,6
30	8,989	0,6	9,852	1 970,3	98,5
60	8,687	0,6	9,820	1 964,0	98,2
120	8,700	0,6	10,093	2 018,5	100,9
240	8,060	0,6	9,714	1 942,8	97,1
360	8,087	0,6	9,982	1 996,5	99,8

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		66,3
5	96,3	70,2
10	101,4	74,2
15	98,6	78,2
30	98,5	90,1
60	98,2	114,1



Protokol 12

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 2D2nN30% 1

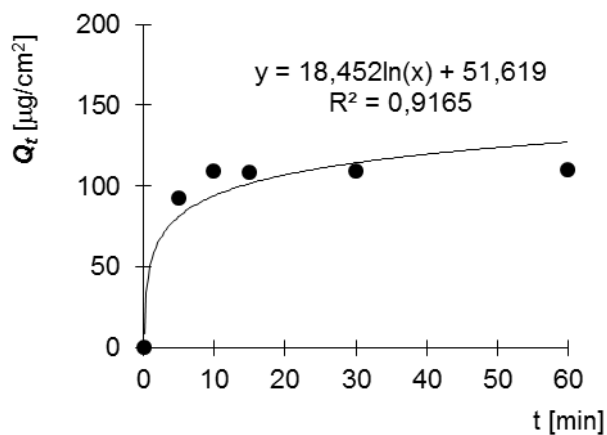
navážka: 12 mg

Měření: NAP 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	9,205	0,6	9,205	1 841,1	92,1
10	10,612	0,6	10,888	2 177,6	108,9
15	10,199	0,6	10,793	2 158,7	107,9
30	10,028	0,6	10,928	2 185,7	109,3
60	9,753	0,6	10,954	2 190,8	109,5
120	9,314	0,6	10,808	2 161,5	108,1
240	9,043	0,6	10,816	2 163,2	108,2
360	8,778	0,6	10,822	2 164,5	108,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		67,9
5	92,1	72,9
10	108,9	77,9
15	107,9	82,9
30	109,3	98,0
60	109,5	128,1



Protokol 13

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D1nPG 5% 1

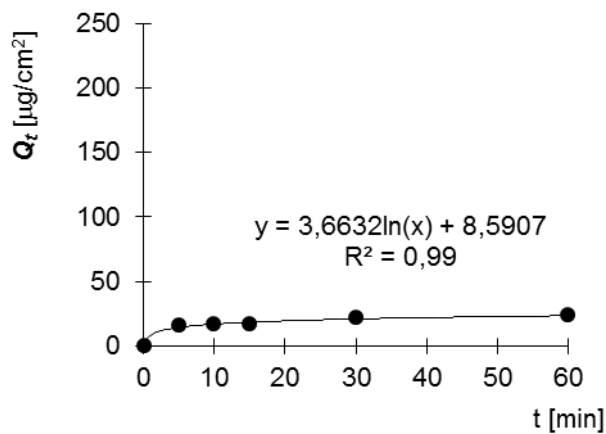
navážka: 9 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,550	0,6	1,550	310,1	15,5
10	1,671	0,6	1,717	343,4	17,2
15	1,605	0,6	1,702	340,4	17,0
30	2,000	0,6	2,144	428,9	21,4
60	2,163	0,6	2,368	473,6	23,7
120	1,951	0,6	2,220	444,1	22,2
240	2,362	0,6	2,690	538,0	26,9
360	1,840	0,6	2,239	447,8	22,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	15,5	11,7
10	17,2	13,1
15	17,0	14,4
30	21,4	18,5
60	23,7	26,8



Protokol 14

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
Q_t	[μg] ve $V_o / 1cm^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D2nPG 5% 1/2

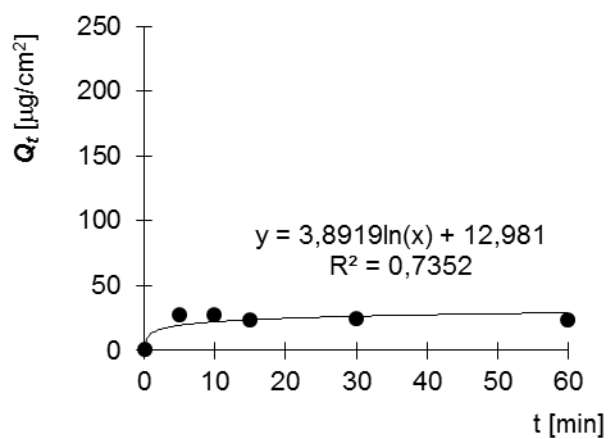
navážka: 9 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	2,692	0,6	2,692	538,4	26,9
10	2,619	0,6	2,699	539,9	27,0
15	2,148	0,6	2,308	461,5	23,1
30	2,139	0,6	2,363	472,5	23,6
60	2,036	0,6	2,324	464,9	23,2
120	1,818	0,6	2,167	433,5	21,7
240	1,719	0,6	2,123	424,6	21,2
360	1,741	0,6	2,196	439,3	22,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	26,9	26,9
10	27,0	27,0
15	23,1	23,1
30	23,6	23,6
60	23,2	23,2



Protokol 15

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D3nPG 5% 1/4

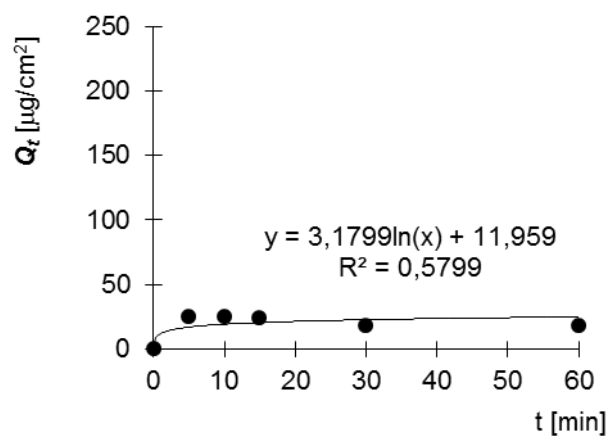
navážka: 9 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	2,469	0,6	2,469	493,7	24,7
10	2,390	0,6	2,464	492,9	24,6
15	2,235	0,6	2,381	476,2	23,8
30	1,582	0,6	1,795	358,9	17,9
60	1,563	0,6	1,823	364,6	18,2
120	1,805	0,6	2,112	422,4	21,1
240	1,856	0,6	2,217	443,4	22,2
360	1,743	0,6	2,160	432,0	21,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	24,7	17,2
10	24,6	17,5
15	23,8	17,9
30	17,9	18,9
60	18,2	21,0



Protokol 16

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D4nPG 5% 1/8

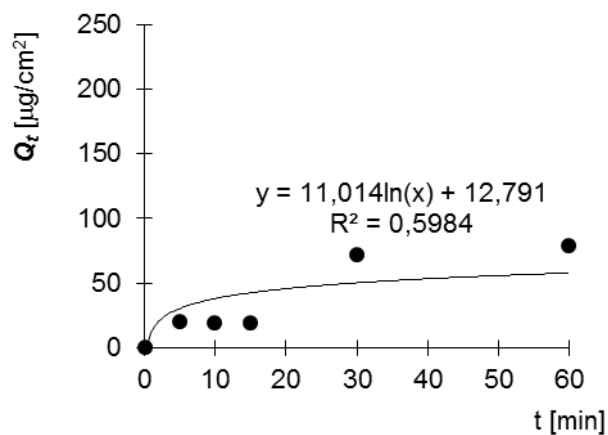
navážka: 10 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,948	0,6	1,948	389,7	19,5
10	1,849	0,6	1,908	381,5	19,1
15	1,746	0,6	1,860	372,0	18,6
30	6,949	0,6	7,116	1 423,1	71,2
60	7,479	0,6	7,854	1 570,8	78,5
120	1,495	0,6	2,094	418,8	20,9
240	1,445	0,6	2,089	417,7	20,9
360	1,350	0,6	2,037	407,5	20,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	19,5	14,4
10	19,1	21,1
15	18,6	27,8
30	71,2	47,8
60	78,5	88,0



Protokol 17

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D1nPG 15% 1

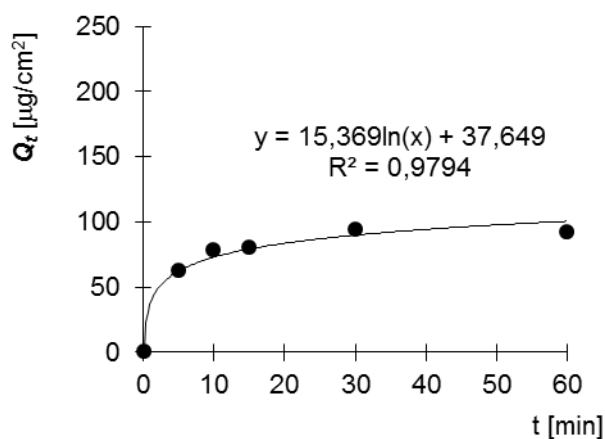
navážka: 10 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	6,276	0,6	6,276	1 255,2	62,8
10	7,656	0,6	7,844	1 568,8	78,4
15	7,564	0,6	7,982	1 596,4	79,8
30	8,792	0,6	9,436	1 887,3	94,4
60	8,298	0,6	9,206	1 841,2	92,1
120	6,312	0,6	7,469	1 493,9	74,7
240	6,074	0,6	7,421	1 484,2	74,2
360	5,728	0,6	7,257	1 451,4	72,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	62,8	52,6
10	78,4	57,7
15	79,8	62,8
30	94,4	78,1
60	92,1	108,7



Protokol 18

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D2nPG 15% 1/2

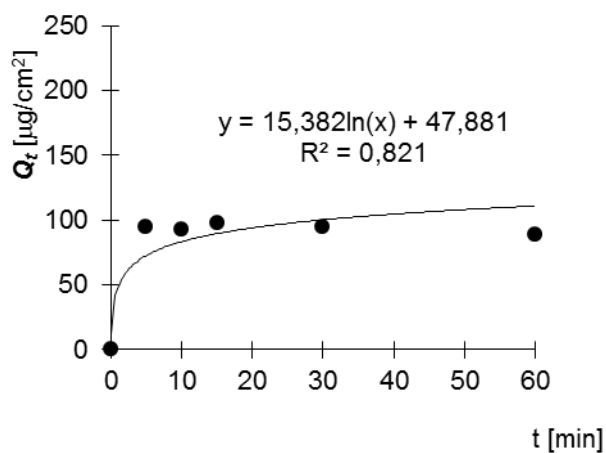
navážka: 11 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	9,456	0,6	9,456	1 891,1	94,6
10	9,021	0,6	9,305	1 860,9	93,0
15	9,210	0,6	9,765	1 952,9	97,6
30	8,692	0,6	9,523	1 904,5	95,2
60	7,761	0,6	8,852	1 770,4	88,5
120	7,669	0,6	8,994	1 798,7	89,9
240	7,459	0,6	9,013	1 802,7	90,1
360	7,038	0,6	8,816	1 763,3	88,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	94,6	68,0
10	93,0	71,4
15	97,6	74,8
30	95,2	84,9
60	88,5	105,1



Protokol 19

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D3nPG 15% 1/4

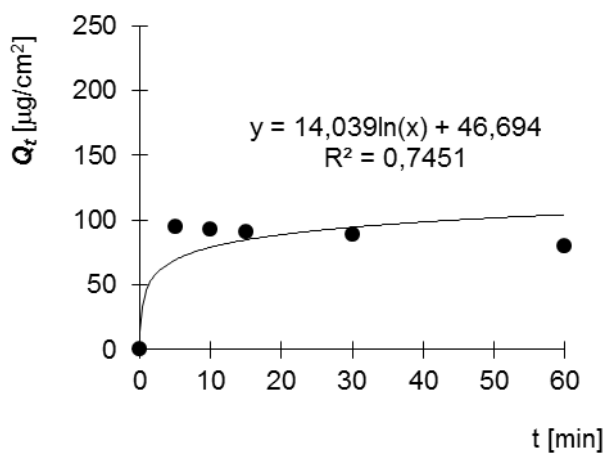
navážka: 10 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	9,476	0,6	9,476	1 895,2	94,8
10	8,961	0,6	9,245	1 849,0	92,5
15	8,554	0,6	9,107	1 821,4	91,1
30	8,020	0,6	8,830	1 766,0	88,3
60	6,892	0,6	7,943	1 588,5	79,4
120	7,347	0,6	8,604	1 720,7	86,0
240	6,960	0,6	8,437	1 687,4	84,4
360	6,562	0,6	8,248	1 649,6	82,5

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
5	94,8	66,7
10	92,5	69,2
15	91,1	71,8
30	88,3	79,4
60	79,4	94,8



Protokol 20

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D4nPG 15% 1/8

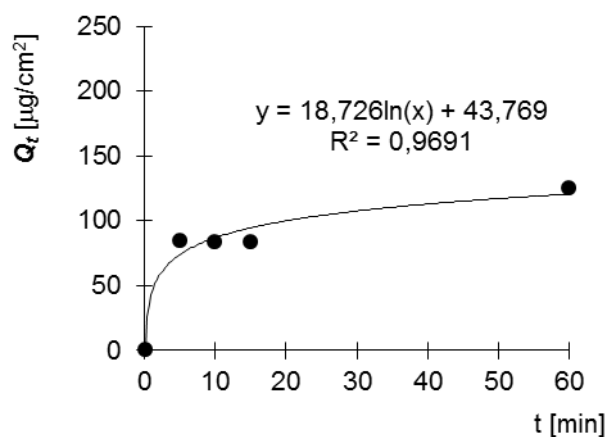
navážka: 11 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	8,403	0,6	8,403	1 680,5	84,0
10	8,125	0,6	8,377	1 675,4	83,8
15	7,842	0,6	8,338	1 667,6	83,4
30	14,557	0,6	15,288	3 057,7	152,9
60	11,351	0,6	12,519	2 503,8	125,2
120	6,428	0,6	7,936	1 587,2	79,4
240	6,236	0,6	7,937	1 587,4	79,4
360	5,902	0,6	7,791	1 558,1	77,9

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
5	84,0	57,2
10	83,8	64,1
15	83,4	71,1
60	125,2	133,7



Protokol 21

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D1nPG 30% 1

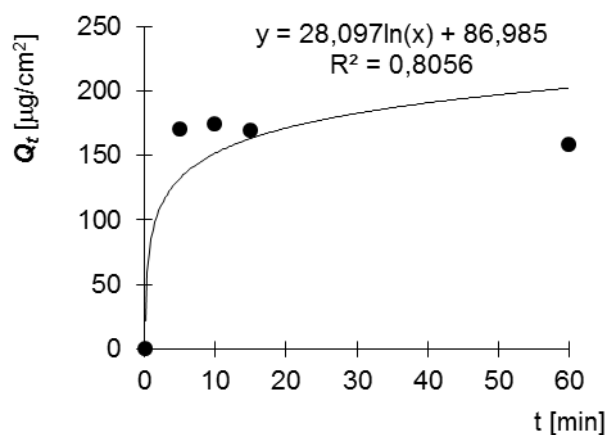
navážka: 11 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	16,987	0,6	16,987	3 397,3	169,9
10	16,898	0,6	17,407	3 481,5	174,1
15	15,931	0,6	16,947	3 389,4	169,5
30	16,290	0,6	17,785	3 557,0	177,8
60	13,803	0,6	15,786	3 157,2	157,9
120	13,017	0,6	15,414	3 082,8	154,1
240	12,996	0,6	15,784	3 156,8	157,8
360	13,394	0,6	16,571	3 314,2	165,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	169,9	120,2
10	174,1	125,6
15	169,5	131,0
60	157,9	179,5



Protokol 22

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D2nPG 30% 1/2

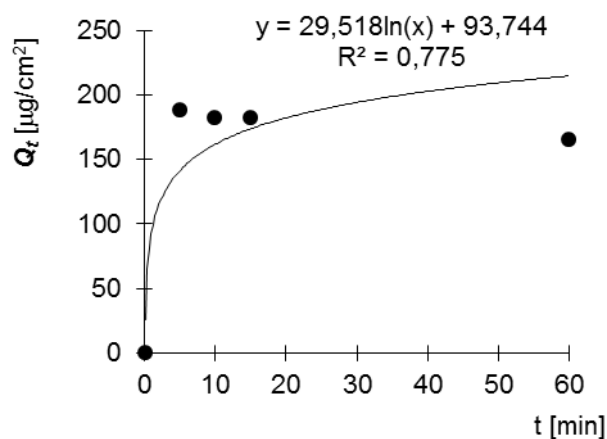
navážka: 12 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	18,829	0,6	18,829	3 765,7	188,3
10	17,640	0,6	18,205	3 641,1	182,1
15	17,108	0,6	18,202	3 640,4	182,0
30	10,152	0,6	11,759	2 351,8	117,6
60	14,554	0,6	16,466	3 293,2	164,7
120	14,680	0,6	17,029	3 405,7	170,3
240	12,518	0,6	15,307	3 061,3	153,1
360	12,778	0,6	15,942	3 188,5	159,4

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
5	188,3	129,7
10	182,1	135,0
15	182,0	140,2
60	164,7	187,6



Protokol 23

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D3nPG 30% 1/4

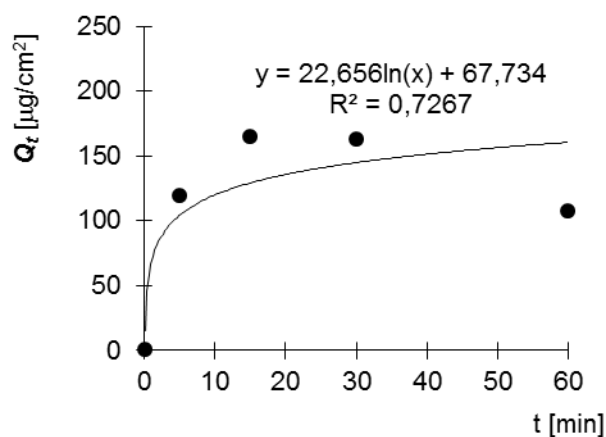
navážka: 11 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	11,930	0,6	11,930	2 385,9	119,3
10	10,633	0,6	10,990	2 198,1	109,9
15	15,806	0,6	16,483	3 296,5	164,8
30	15,133	0,6	16,284	3 256,9	162,8
60	9,112	0,6	10,717	2 143,4	107,2
120	8,669	0,6	10,547	2 109,4	105,5
240	8,262	0,6	10,400	2 080,1	104,0
360	8,435	0,6	10,821	2 164,2	108,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	119,3	94,9
15	164,8	104,2
30	162,8	118,3
60	107,2	146,5



Protokol 24

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 3D4nPG 30% 1/8

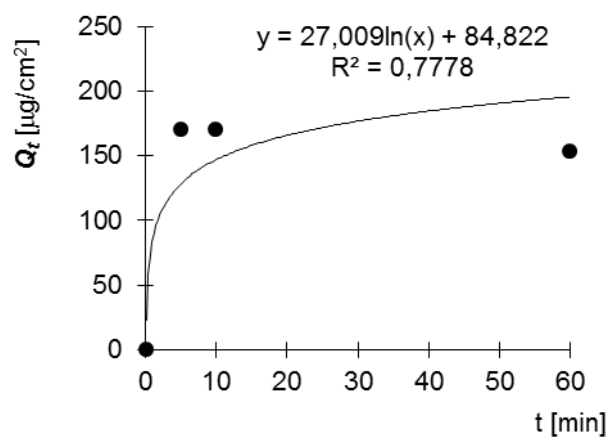
navážka: 11 mg

Měření: PG 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	16,974	0,6	16,974	3 394,8	169,7
10	16,523	0,6	17,033	3 406,5	170,3
15	1,534	0,6	2,539	507,7	25,4
30	1,793	0,6	2,844	568,9	28,4
60	14,223	0,6	15,327	3 065,5	153,3
120	13,762	0,6	15,293	3 058,7	152,9
240	14,287	0,6	16,231	3 246,2	162,3
360	12,122	0,6	14,495	2 898,9	144,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	169,7	108,5
10	170,3	113,9
60	153,3	167,6



Protokol 25

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 4D1nPG 5% 1

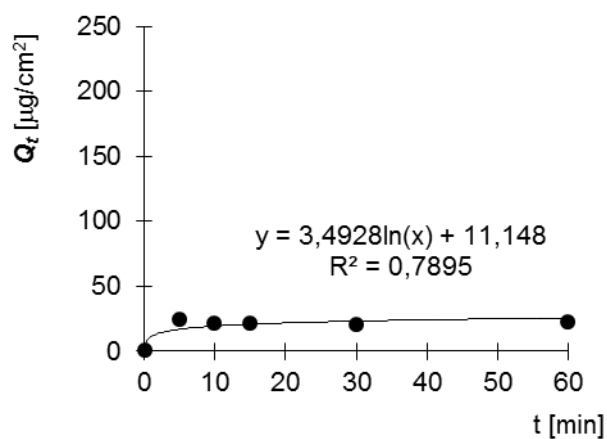
navážka: 8 mg

Měření: PG 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	2,363	0,6	2,363	472,5	23,6
10	2,065	0,6	2,135	427,1	21,4
15	1,983	0,6	2,115	423,1	21,2
30	1,850	0,6	2,042	408,4	20,4
60	1,912	0,6	2,160	431,9	21,6
120	1,704	0,6	2,009	401,8	20,1
240	1,639	0,6	1,995	399,0	20,0
360	1,506	0,6	1,912	382,3	19,1

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	23,6	15,6
10	21,4	16,4
15	21,2	17,2
30	20,4	19,6
60	21,6	24,4



Protokol 26

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] 1cm ² ve V_o /

$V_o =$ 20

membr: 4D2nPG 5% 1/2

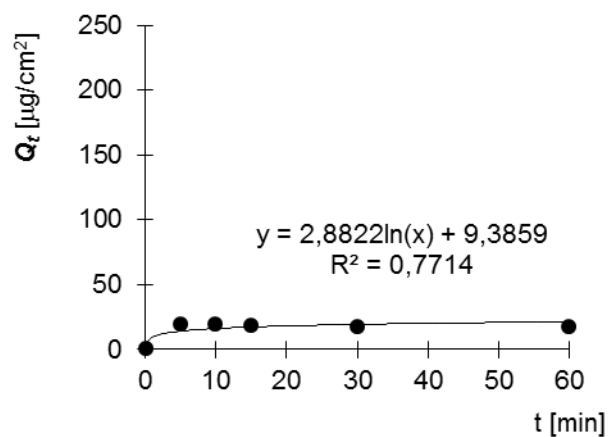
Navážka: 9 mg

Měření: PG 2

Plocha: 20 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	1,935	0,6	1,935	387,1	19,4
10	1,809	0,6	1,867	373,3	18,7
15	1,681	0,6	1,793	358,6	17,9
30	1,552	0,6	1,715	343,0	17,1
60	1,517	0,6	1,727	345,3	17,3
120	1,401	0,6	1,655	331,1	16,6
240	1,430	0,6	1,727	345,4	17,3
360	1,269	0,6	1,609	321,7	16,1

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
5	19,4	19,4
10	18,7	18,7
15	17,9	17,9
30	17,1	17,1
60	17,3	17,3



Protokol 27

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve V_o / 1cm ²

$V_o =$ 20

membr: 4D3nPG 5% 1/4

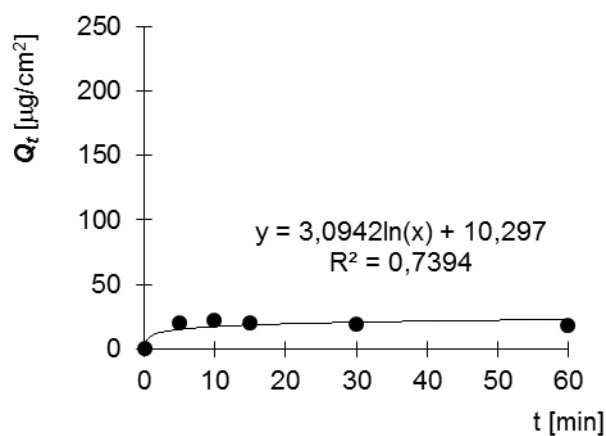
navážka: 9 mg

Měření: PG 2

Plocha: 20 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	2,031	0,6	2,031	406,1	20,3
10	2,115	0,6	2,176	435,2	21,8
15	1,838	0,6	1,963	392,6	19,6
30	1,715	0,6	1,894	378,8	18,9
60	1,539	0,6	1,769	353,9	17,7
120	1,673	0,6	1,950	390,0	19,5
240	1,370	0,6	1,697	339,5	17,0
360	1,418	0,6	1,786	357,2	17,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	20,3	14,7
10	21,8	15,3
15	19,6	15,8
30	18,9	17,5
60	17,7	20,9



Protokol 28

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve V_o / 1cm ²

$V_o = 20$

membr: 4D4nPG 5% 1/8

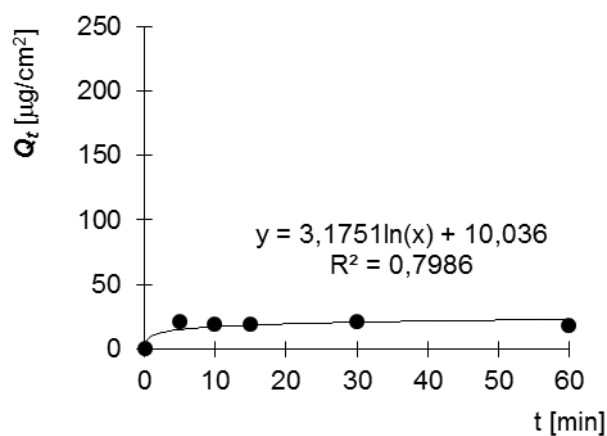
navážka: 8 mg

Měření: PG 2

Plocha: 20 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	2,061	0,6	2,061	412,2	20,6
10	1,864	0,6	1,926	385,3	19,3
15	1,782	0,6	1,900	380,0	19,0
30	1,900	0,6	2,071	414,3	20,7
60	1,585	0,6	1,814	362,7	18,1
120	1,513	0,6	1,789	357,7	17,9
240	1,458	0,6	1,779	355,9	17,8
360	1,420	0,6	1,785	357,1	17,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	20,6	14,2
10	19,3	14,9
15	19,0	15,6
30	20,7	17,7
60	18,1	21,8



Protokol 29

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr: 4D1nPG 15% 1

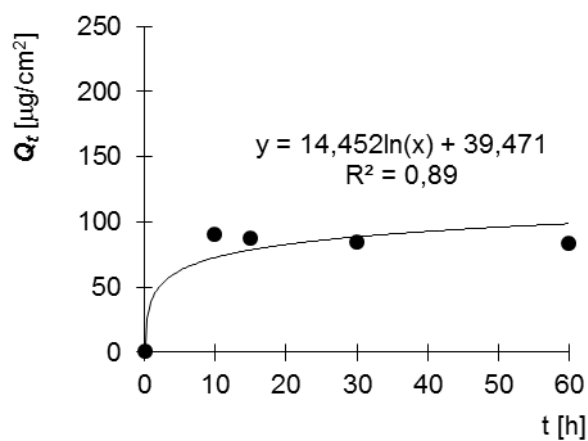
navážka: 11 mg

Měření: PG 2

Plocha: **20** cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	9,226	0,6	9,226	1 845,1	92,3
10	8,705	0,6	8,982	1 796,4	89,8
15	8,205	0,6	8,743	1 748,7	87,4
30	7,618	0,6	8,402	1 680,4	84,0
60	7,342	0,6	8,354	1 670,9	83,5
120	6,920	0,6	8,153	1 630,6	81,5
240	6,499	0,6	7,939	1 587,9	79,4
360	6,229	0,6	7,864	1 572,9	78,6

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
10	89,8	58,2
15	87,4	62,3
30	84,0	74,8
60	83,5	99,7



Protokol 30

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr: 4D2nPG 15% 1/2

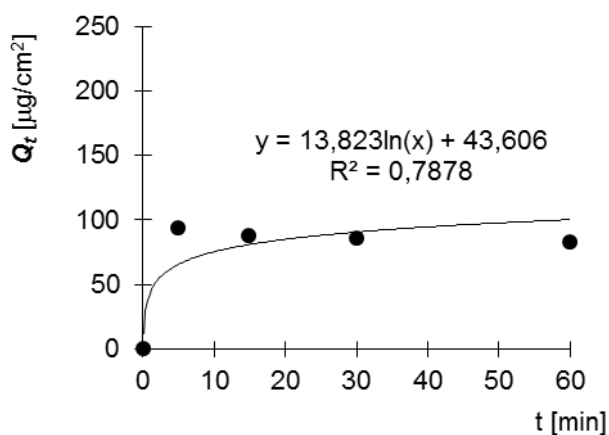
navážka: 10 mg

Měření: PG 2

Plocha: **20** cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	9,378	0,6	9,378	1 875,6	93,8
10	9,485	0,6	9,767	1 953,4	97,7
15	8,230	0,6	8,796	1 759,1	88,0
30	7,724	0,6	8,536	1 707,3	85,4
60	7,195	0,6	8,239	1 647,9	82,4
120	6,870	0,6	8,130	1 626,1	81,3
240	6,542	0,6	8,008	1 601,7	80,1
360	6,205	0,6	7,868	1 573,6	78,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	93,8	58,2
15	88,0	65,1
30	85,4	75,4
60	82,4	96,0



Protokol 31

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr: 4D3nPG 15% 1/4

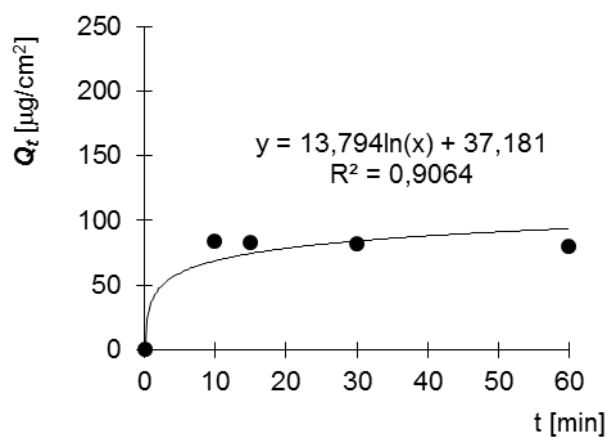
navážka: 10 mg

Měření: PG 2

Plocha: 20 cm²

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	8,892	0,6	8,892	1 778,4	88,9
10	8,061	0,6	8,328	1 665,6	83,3
15	7,739	0,6	8,248	1 649,5	82,5
30	7,375	0,6	8,116	1 623,2	81,2
60	7,012	0,6	7,974	1 594,8	79,7
120	6,623	0,6	7,796	1 559,1	78,0
240	6,308	0,6	7,679	1 535,8	76,8
360	5,965	0,6	7,526	1 505,1	75,3

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
10	83,3	54,7
15	82,5	58,8
30	81,2	71,0
60	79,7	95,4



Protokol 32

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr: 4D4nPG 15% 1/8

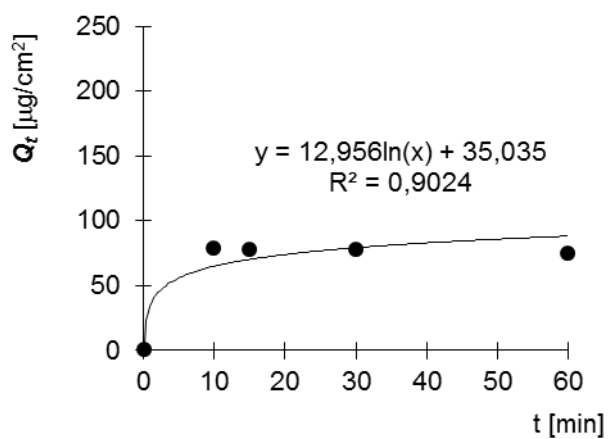
navážka: 10 mg

Měření: PG 2

Plocha: **20** cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	8,434	0,6	8,434	1 686,8	84,3
10	7,585	0,6	7,838	1 567,5	78,4
15	7,293	0,6	7,773	1 554,7	77,7
30	6,997	0,6	7,696	1 539,2	77,0
60	6,521	0,6	7,430	1 486,0	74,3
120	6,200	0,6	7,305	1 461,0	73,1
240	5,739	0,6	7,030	1 406,0	70,3
360	5,632	0,6	7,095	1 419,0	70,9

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
10	78,4	51,7
15	77,7	55,4
30	77,0	66,7
60	74,3	89,4



Protokol 33

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 4D1nPG 30% 1

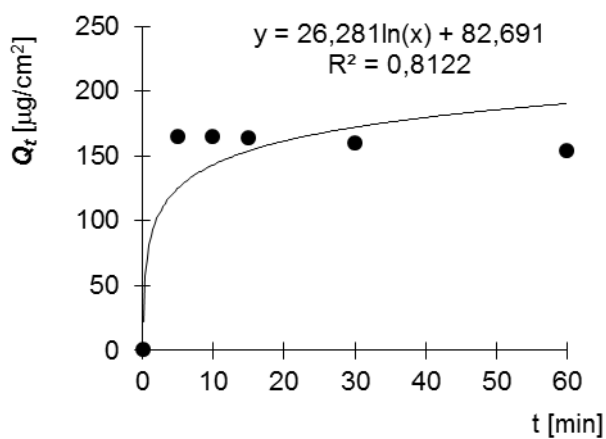
navážka: 12 mg

Měření: PG 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	16,452	0,6	16,452	3 290,4	164,5
10	15,981	0,6	16,475	3 294,9	164,7
15	15,387	0,6	16,360	3 272,1	163,6
30	14,550	0,6	15,984	3 196,9	159,8
60	13,517	0,6	15,388	3 077,7	153,9
120	13,097	0,6	15,373	3 074,6	153,7
240	12,751	0,6	15,421	3 084,2	154,2
360	12,141	0,6	15,193	3 038,6	151,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	164,5	117,2
10	164,7	122,9
15	163,6	128,7
30	159,8	145,9
60	153,9	180,3



Protokol 34

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr: 4D2nPG 30% 1/2

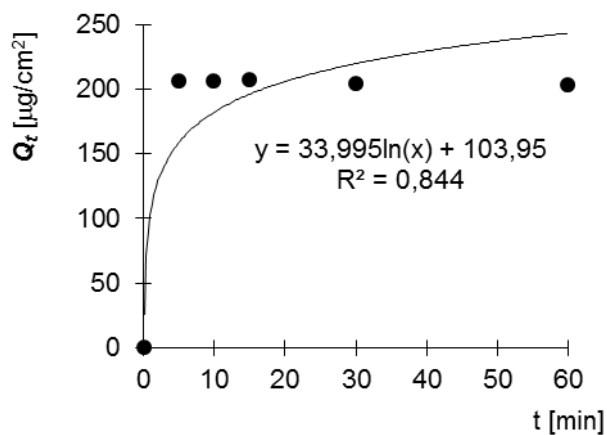
navážka: 10 mg

Měření: PG 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	20,600	0,6	20,600	4 120,0	206,0
10	19,997	0,6	20,615	4 123,0	206,2
15	19,454	0,6	20,672	4 134,3	206,7
30	18,557	0,6	20,359	4 071,8	203,6
60	17,925	0,6	20,284	4 056,7	202,8
120	17,426	0,6	20,322	4 064,3	203,2
240	16,507	0,6	19,926	3 985,1	199,3
360	16,625	0,6	20,539	4 107,8	205,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	206,0	146,6
10	206,2	154,7
15	206,7	162,8
30	203,6	187,0
60	202,8	235,4



Protokol 35

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr: 4D3nPG 30% 1/4

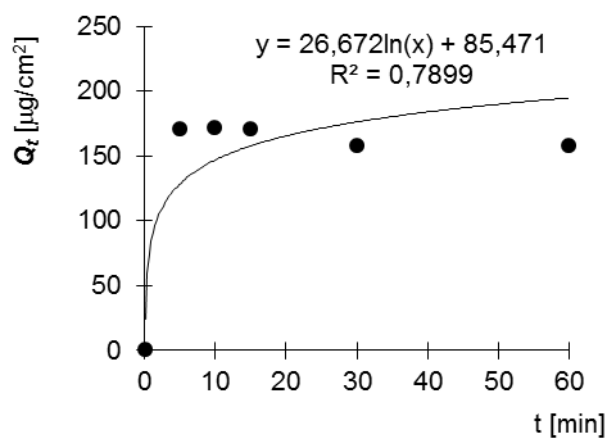
navážka: 11 mg

Měření: PG 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	17,040	0,6	17,040	3 407,9	170,4
10	16,678	0,6	17,189	3 437,8	171,9
15	16,015	0,6	17,027	3 405,3	170,3
30	14,296	0,6	15,788	3 157,6	157,9
60	13,827	0,6	15,748	3 149,6	157,5
120	14,539	0,6	16,875	3 374,9	168,7
240	12,642	0,6	15,414	3 082,7	154,1
360	11,627	0,6	14,778	2 955,7	147,8

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
5	170,4	121,2
10	171,9	126,8
15	170,3	132,4
30	157,9	149,2
60	157,5	182,7



Protokol 36

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr: 4D4nPG 30% 1/8

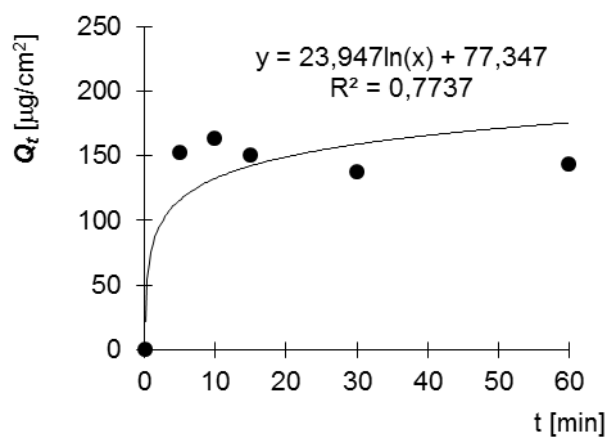
navážka: 10 mg

Měření: PG 2

Plocha: **20** cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	15,226	0,6	15,226	3 045,3	152,3
10	15,886	0,6	16,342	3 268,5	163,4
15	14,072	0,6	15,006	3 001,2	150,1
30	12,408	0,6	13,763	2 752,7	137,6
60	12,631	0,6	14,359	2 871,7	143,6
120	12,092	0,6	14,198	2 839,7	142,0
240	11,576	0,6	14,045	2 809,1	140,5
360	10,586	0,6	13,403	2 680,6	134,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	152,3	109,5
10	163,4	114,5
15	150,1	119,5
30	137,6	134,4
60	143,6	164,4



Protokol 37

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 5D1nPG 5% 1

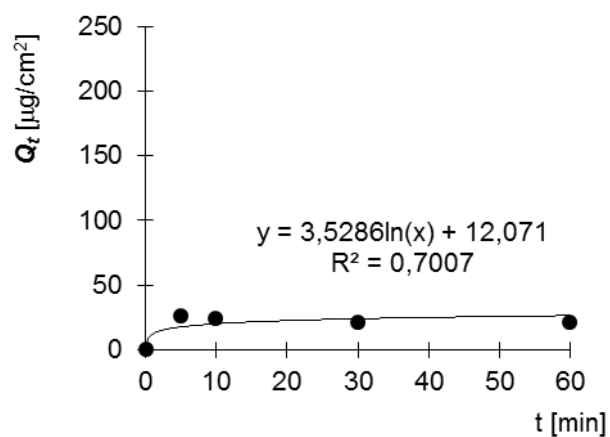
navážka: 9 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	2,596	0,6	2,596	519,2	26,0
10	2,319	0,6	2,397	479,3	24,0
15		0,6	0,147	29,5	1,5
30	1,983	0,6	2,131	426,1	21,3
60	1,918	0,6	2,125	425,0	21,2
120	1,790	0,6	2,054	410,8	20,5
240	1,682	0,6	2,000	400,0	20,0
360	1,604	0,6	1,973	394,5	19,7

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
5	26,0	16,2
10	24,0	16,9
30	21,3	19,8
60	21,2	24,0



Protokol 38

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 5D2nPG 5% 1/2

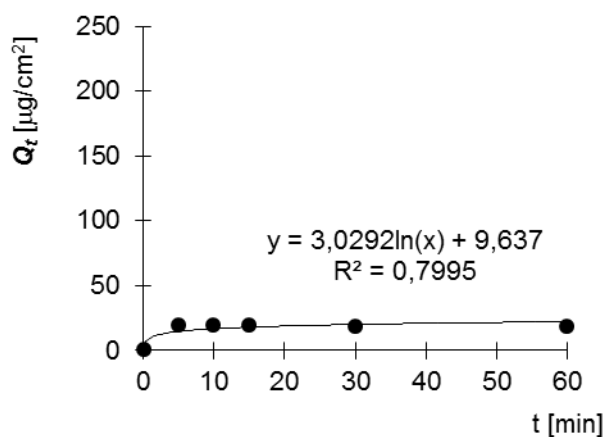
navážka: 8 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,939	0,6	1,939	387,8	19,4
10	1,882	0,6	1,940	388,0	19,4
15	1,754	0,6	1,868	373,6	18,7
30	1,646	0,6	1,813	362,7	18,1
60	1,584	0,6	1,800	360,0	18,0
120	1,587	0,6	1,851	370,1	18,5
240	1,546	0,6	1,858	371,5	18,6
360	1,322	0,6	1,680	336,0	16,8

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	19,4	19,4
10	19,4	19,4
15	18,7	18,7
30	18,1	18,1
60	18,0	18,0



Protokol 39

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 5D3nPG 5% 1/4

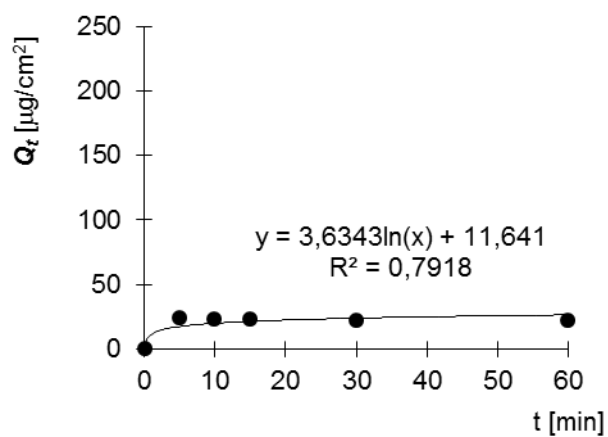
navážka: 9 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	2,367	0,6	2,367	473,3	23,7
10	2,235	0,6	2,306	461,3	23,1
15	2,135	0,6	2,273	454,6	22,7
30	1,966	0,6	2,168	433,6	21,7
60	1,903	0,6	2,164	432,8	21,6
120	1,739	0,6	2,057	411,5	20,6
240	1,706	0,6	2,076	415,3	20,8
360	1,626	0,6	2,047	409,5	20,5

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
5	23,7	16,5
10	23,1	17,2
15	22,7	18,0
30	21,7	20,4
60	21,6	25,0



Protokol 40

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 5D4nPG 5% 1/8

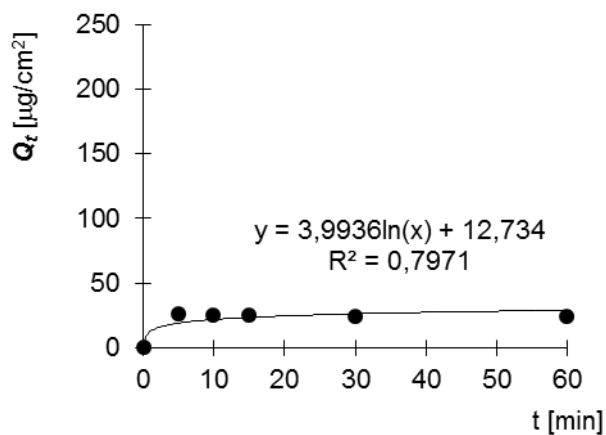
navážka: 10 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	2,593	0,6	2,593	518,6	25,9
10	2,455	0,6	2,533	506,5	25,3
15	2,290	0,6	2,441	488,2	24,4
30	2,200	0,6	2,420	484,1	24,2
60	2,085	0,6	2,371	474,2	23,7
120	1,961	0,6	2,309	461,8	23,1
240	1,834	0,6	2,242	448,4	22,4
360	1,832	0,6	2,294	458,9	22,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	25,9	18,0
10	25,3	18,9
15	24,4	19,7
30	24,2	22,3
60	23,7	27,5



Protokol 41

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr.: 5D1nPG 15% 1

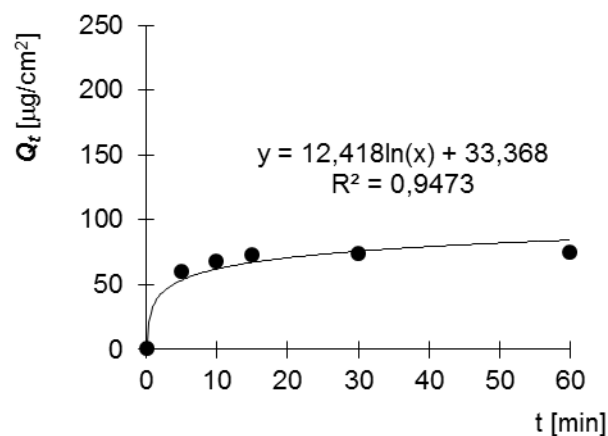
navážka: 11 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	5,917	0,6	5,917	1 183,4	59,2
10	6,596	0,6	6,773	1 354,7	67,7
15	6,840	0,6	7,215	1 443,1	72,2
30	6,777	0,6	7,357	1 471,5	73,6
60	6,643	0,6	7,427	1 485,3	74,3
120	6,313	0,6	7,296	1 459,2	73,0
240	6,088	0,6	7,261	1 452,2	72,6
360	5,965	0,6	7,320	1 464,0	73,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	59,2	46,9
10	67,7	50,5
15	72,2	54,2
30	73,6	65,1
60	74,3	86,8



Protokol 42

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 5D2nPG 15% 1/2

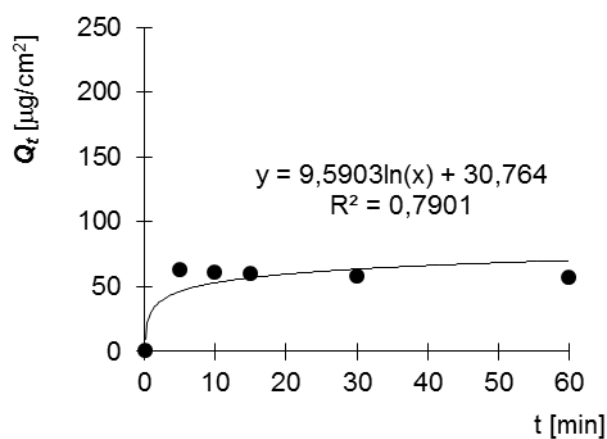
navážka: 9 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	6,293	0,6	6,293	1 258,7	62,9
10	5,896	0,6	6,085	1 217,0	60,9
15	5,549	0,6	5,915	1 182,9	59,1
30	5,268	0,6	5,801	1 160,1	58,0
60	5,004	0,6	5,694	1 138,8	56,9
120	4,638	0,6	5,478	1 095,7	54,8
240	4,402	0,6	5,382	1 076,3	53,8
360	4,195	0,6	5,306	1 061,3	53,1

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	62,9	43,5
10	60,9	45,5
15	59,1	47,6
30	58,0	53,7
60	56,9	66,1



Protokol 43

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr.: 5D3nPG 15% 1/4

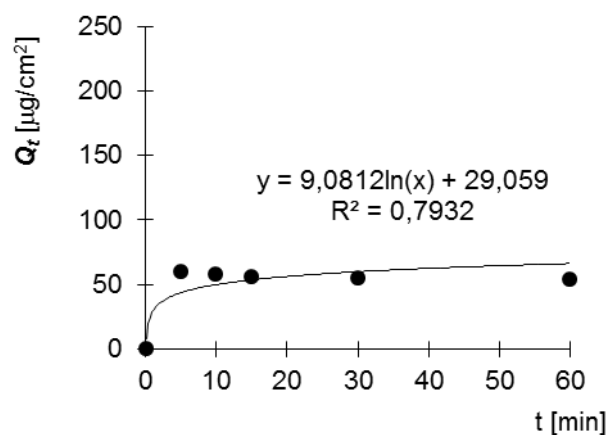
navážka: 11 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	5,929	0,6	5,929	1 185,7	59,3
10	5,556	0,6	5,734	1 146,7	57,3
15	5,272	0,6	5,617	1 123,4	56,2
30	5,008	0,6	5,511	1 102,2	55,1
60	4,720	0,6	5,373	1 074,6	53,7
120	4,349	0,6	5,143	1 028,7	51,4
240	4,215	0,6	5,140	1 028,0	51,4
360	3,951	0,6	5,002	1 000,4	50,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	59,3	41,1
10	57,3	43,0
15	56,2	45,0
30	55,1	50,8
60	53,7	62,5



Protokol 44

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr.: 5D4nPG 15% 1/8

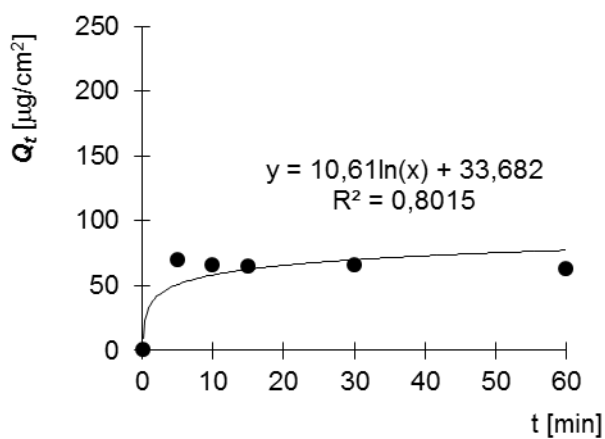
navážka: 11 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	6,917	0,6	6,917	1 383,4	69,2
10	6,319	0,6	6,527	1 305,4	65,3
15	6,109	0,6	6,506	1 301,2	65,1
30	5,955	0,6	6,535	1 307,0	65,4
60	5,499	0,6	6,258	1 251,6	62,6
120	5,145	0,6	6,069	1 213,8	60,7
240	4,857	0,6	5,936	1 187,1	59,4
360	4,662	0,6	5,886	1 177,3	58,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	69,2	47,6
10	65,3	49,9
15	65,1	52,2
30	65,4	59,2
60	62,6	73,1



Protokol 45

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 5D1nPG 30% 1

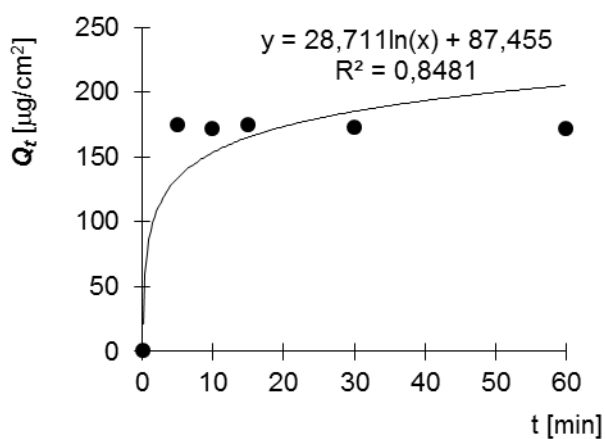
navážka: 11 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	17,437	0,6	17,437	3 487,4	174,4
10	16,621	0,6	17,144	3 428,8	171,4
15	16,374	0,6	17,395	3 479,1	174,0
30	15,735	0,6	17,248	3 449,6	172,5
60	15,181	0,6	17,166	3 433,1	171,7
120	14,939	0,6	17,379	3 475,9	173,8
240	14,936	0,6	17,824	3 564,9	178,2
360	14,238	0,6	17,574	3 514,9	175,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	174,4	123,3
10	171,4	130,2
15	174,0	137,1
30	172,5	157,8
60	171,7	199,2



Protokol 46

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μg] ve V_o
Q_t	[μg] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr.: 5D2nPG 30% 1/2

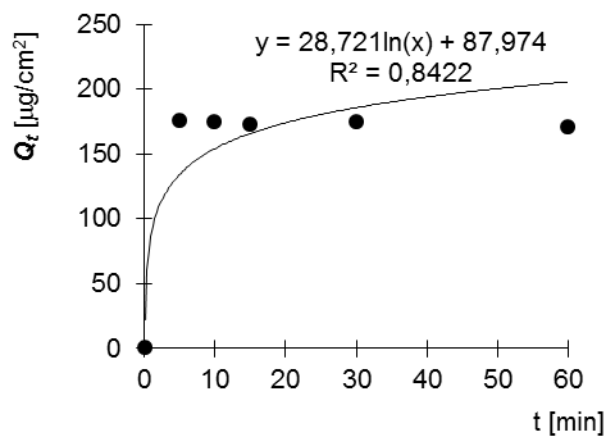
navážka: 9 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	17,518	0,6	17,518	3 503,6	175,2
10	16,878	0,6	17,404	3 480,8	174,0
15	16,256	0,6	17,288	3 457,6	172,9
30	15,933	0,6	17,453	3 490,6	174,5
60	15,053	0,6	17,050	3 410,0	170,5
120	14,872	0,6	17,322	3 464,3	173,2
240	14,205	0,6	17,101	3 420,1	171,0
360	14,942	0,6	18,264	3 652,8	182,6

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	175,2	124,2
10	174,0	130,9
15	172,9	137,7
30	174,5	158,1
60	170,5	198,8



Protokol 47

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 5D3nPG 30% 1/4

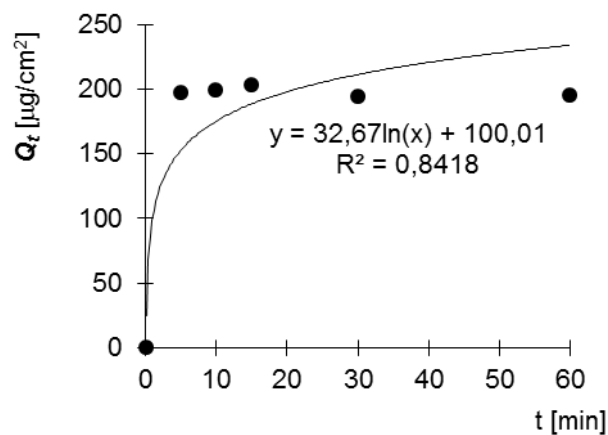
navážka: 8 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	19,634	0,6	19,634	3 926,8	196,3
10	19,317	0,6	19,906	3 981,2	199,1
15	19,075	0,6	20,244	4 048,7	202,4
30	17,616	0,6	19,357	3 871,3	193,6
60	17,190	0,6	19,460	3 891,9	194,6
120	19,414	0,6	22,199	4 439,8	222,0
240	16,363	0,6	19,731	3 946,1	197,3
360	15,134	0,6	18,993	3 798,5	189,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	196,3	141,3
10	199,1	149,0
15	202,4	156,6
30	193,6	179,7
60	194,6	225,7



Protokol 48

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 5D4nPG 30% 1/8

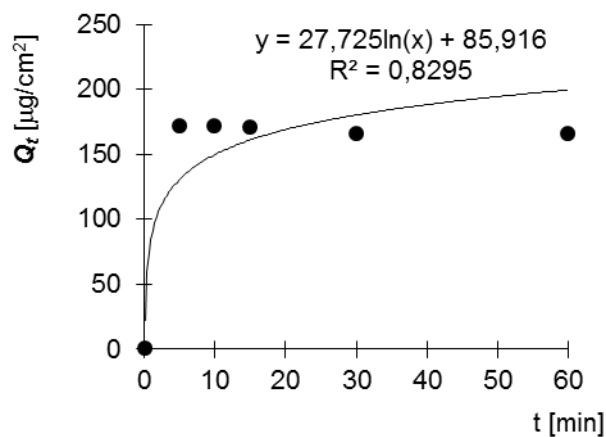
navážka: 9 mg

Měření: PG 3

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	17,104	0,6	17,104	3 420,8	171,0
10	16,589	0,6	17,102	3 420,3	171,0
15	16,004	0,6	17,014	3 402,9	170,1
30	15,059	0,6	16,550	3 310,1	165,5
60	14,588	0,6	16,531	3 306,1	165,3
120	14,166	0,6	16,546	3 309,2	165,5
240	13,907	0,6	16,712	3 342,4	167,1
360	13,714	0,6	16,936	3 387,3	169,4

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
5	171,0	121,3
10	171,0	127,7
15	170,1	134,1
30	165,5	153,3
60	165,3	191,6



Protokol 49

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 6D1nG 5% 1/4

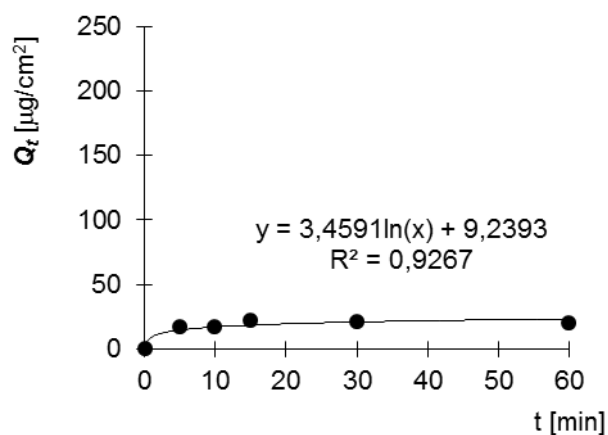
navážka: 9 mg

Měření: GL 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,682	0,6	1,682	336,4	16,8
10	1,622	0,6	1,673	334,5	16,7
15	2,066	0,6	2,165	433,0	21,7
30	1,908	0,6	2,069	413,9	20,7
60	1,822	0,6	2,041	408,1	20,4
120	1,762	0,6	2,035	407,1	20,4
240	1,605	0,6	1,930	386,1	19,3
360	1,615	0,6	1,989	397,8	19,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		12,0
5	16,8	13,0
10	16,7	14,0
15	21,7	15,0
30	20,7	18,1
60	20,4	24,1



Protokol 50

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr.: 6D2nG 5% 1/8

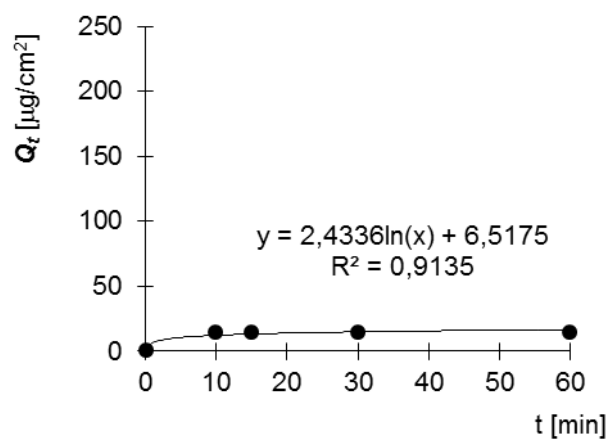
navážka: 8 mg

Měření: GL 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	1,807	0,6	1,807	361,3	18,1
10	1,389	0,6	1,444	288,7	14,4
15	1,364	0,6	1,460	292,0	14,6
30	1,289	0,6	1,425	285,1	14,3
60	1,237	0,6	1,413	282,5	14,1
120	0,168	0,6	0,380	76,0	3,8
240	0,090	0,6	0,308	61,6	3,1
360	1,282	0,6	1,502	300,4	15,0

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		
10	14,4	14,4
15	14,6	14,6
30	14,3	14,3
60	14,1	14,1



Protokol 51

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 6D1nG 15% 1/4

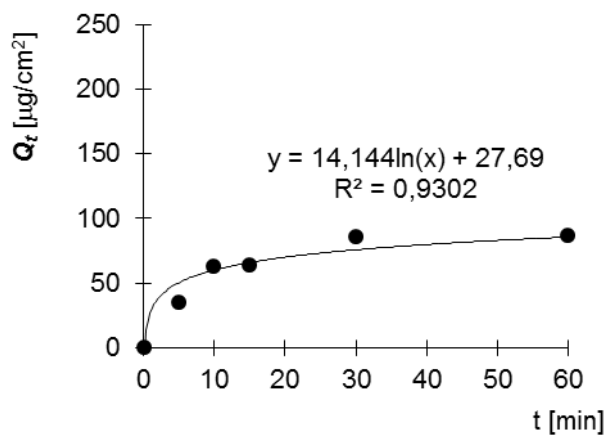
navážka: 11 mg

Měření: GL 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	3,452	0,6	3,452	690,4	34,5
10	6,157	0,6	6,261	1 252,1	62,6
15	6,121	0,6	6,410	1 281,9	64,1
30	8,092	0,6	8,564	1 712,7	85,6
60	7,923	0,6	8,637	1 727,4	86,4
120	0,753	0,6	1,705	341,0	17,0
240	7,383	0,6	8,358	1 671,6	83,6
360	7,078	0,6	8,274	1 654,9	82,7

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		32,4
5	34,5	38,1
10	62,6	43,9
15	64,1	49,7
30	85,6	67,1
60	86,4	102,0



Protokol 52

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 6D2nG 15% 1/8

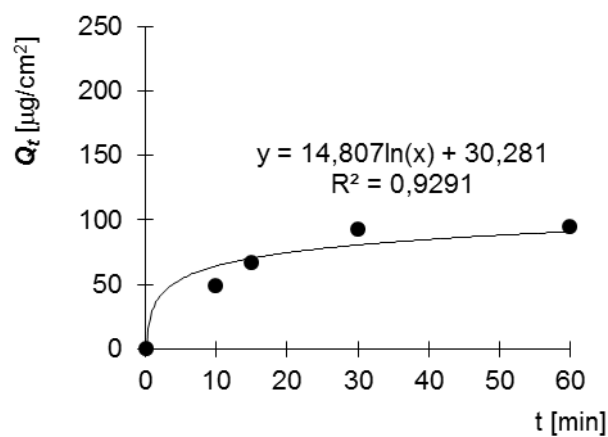
navážka: 10 mg

Měření: GL 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	9,577	0,6	9,577	1 915,4	95,8
10	4,581	0,6	4,869	973,7	48,7
15	6,281	0,6	6,706	1 341,2	67,1
30	8,651	0,6	9,264	1 852,9	92,6
60	8,537	0,6	9,410	1 882,0	94,1
120	8,459	0,6	9,587	1 917,5	95,9
240	7,606	0,6	8,988	1 797,6	89,9
360	7,277	0,6	8,887	1 777,5	88,9

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		29,4
10	48,7	42,8
15	67,1	49,6
30	92,6	70,0
60	94,1	110,7



Protokol 53

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 6D1nG 30% 1/4

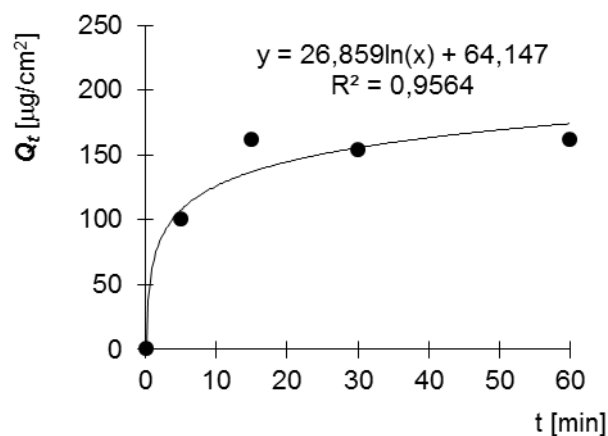
navážka: 10 mg

Měření: GL 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	10,018	0,6	10,018	2 003,5	100,2
10	8,699	0,6	9,000	1 800,0	90,0
15	15,595	0,6	16,156	3 231,3	161,6
30	14,291	0,6	15,320	3 064,0	153,2
60	14,666	0,6	16,124	3 224,8	161,2
120	0,711	0,6	2,609	521,9	26,1
240	4,718	0,6	6,638	1 327,5	66,4
360	11,894	0,6	13,954	2 790,9	139,5

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		72,8
5	100,2	82,2
15	161,6	101,6
30	153,2	130,7
60	161,2	188,8



Protokol 54

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
Q_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr.: 6D2nG 30% 1/8

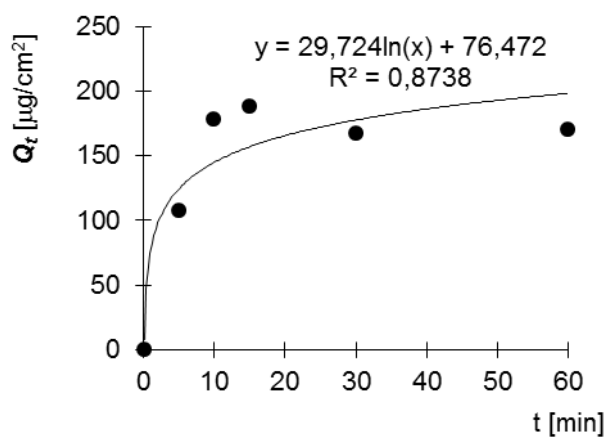
navážka: 11 mg

Měření: GL 1

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	Q_t
5	10,715	0,6	10,715	2 143,0	107,2
10	17,435	0,6	17,756	3 551,3	177,6
15	17,947	0,6	18,791	3 758,2	187,9
30	15,307	0,6	16,690	3 338,0	166,9
60	15,201	0,6	17,044	3 408,7	170,4
120	14,123	0,6	16,421	3 284,2	164,2
240	13,781	0,6	16,503	3 300,5	165,0
360	14,790	0,6	17,925	3 585,0	179,2

t	$Q_t (exp)$	$Q_t (teor)$
0,1		101,2
5	107,2	109,5
10	177,6	118,0
15	187,9	126,5
30	166,9	151,9
60	170,4	202,8



Protokol 55

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 7D1nG 5% 1/4

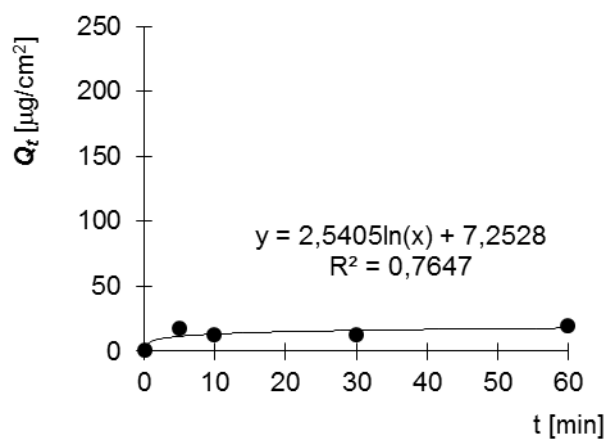
navážka: 9 mg

Měření: GL 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	1,665	0,6	1,665	333,1	16,7
10	1,188	0,6	1,238	247,5	12,4
15	0,417	0,6	0,503	100,6	5,0
30	1,070	0,6	1,168	233,6	11,7
60	1,739	0,6	1,869	373,7	18,7
120	1,654	0,6	1,837	367,3	18,4
240	1,861	0,6	2,093	418,7	20,9
360	0,140	0,6	0,427	85,5	4,3

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		8,2
5	16,7	9,0
10	12,4	9,9
30	11,7	13,5
60	18,7	18,8



Protokol 56

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 5% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o = 20$

membr.: 7D2nG 5% 1/8

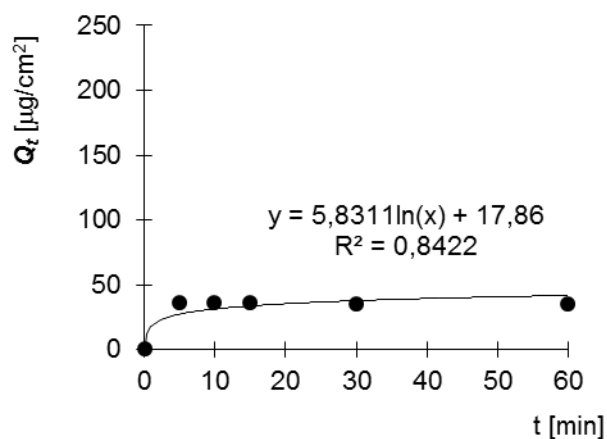
navážka: 9 mg

Měření: GL 2

Plocha: **20** cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	3,546	0,6	3,546	709,1	35,5
10	3,454	0,6	3,560	712,0	35,6
15	3,323	0,6	3,533	706,5	35,3
30	3,157	0,6	3,467	693,4	34,7
60	3,095	0,6	3,499	699,8	35,0
120	2,787	0,6	3,284	656,8	32,8
240	0,929	0,6	1,510	302,0	15,1
360	2,990	0,6	3,599	719,7	36,0

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		
5	35,5	35,5
10	35,6	35,6
15	35,3	35,3
30	34,7	34,7
60	35,0	35,0



Protokol 57

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 7D1nG 15% 1/4

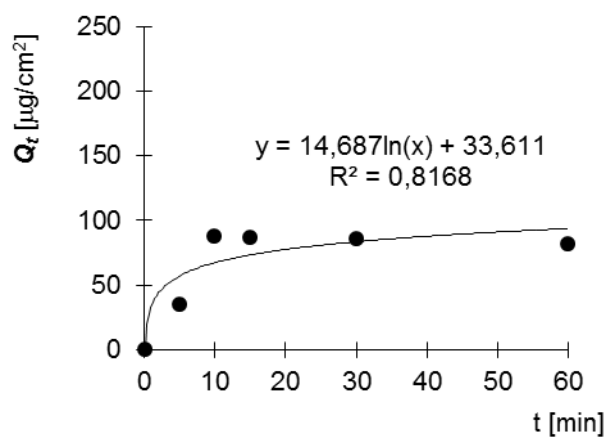
navážka: 11 mg

Měření: GL 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	3,455	0,6	3,455	690,9	34,5
10	8,636	0,6	8,739	1 747,9	87,4
15	8,281	0,6	8,644	1 728,8	86,4
30	7,921	0,6	8,532	1 706,4	85,3
60	7,297	0,6	8,146	1 629,2	81,5
120	0,058	0,6	1,126	225,2	11,3
240		0,6	1,069	213,9	10,7
360		0,6	1,069	213,9	10,7

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		44,0
5	34,5	48,5
10	87,4	53,2
15	86,4	57,8
30	85,3	71,8
60	81,5	99,8



Protokol 58

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 15% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 7D2nG 15% 1/8

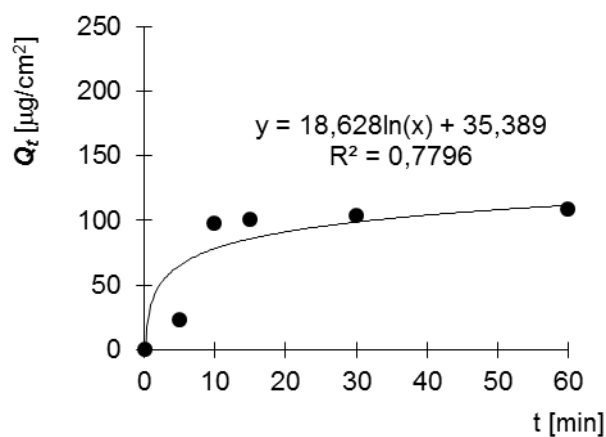
navážka: 11 mg

Měření: GL 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	2,258	0,6	2,258	451,7	22,6
10	9,704	0,6	9,772	1 954,4	97,7
15	9,695	0,6	10,054	2 010,8	100,5
30	9,672	0,6	10,322	2 064,3	103,2
60	9,893	0,6	10,833	2 166,6	108,3
120	8,993	0,6	10,230	2 045,9	102,3
240	9,514	0,6	11,020	2 204,0	110,2
360	7,859	0,6	9,651	1 930,2	96,5

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		43,2
5	22,6	50,3
10	97,7	57,6
15	100,5	64,8
30	103,2	86,5
60	108,3	129,9



Protokol 59

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 7D1nG 30% 1/4

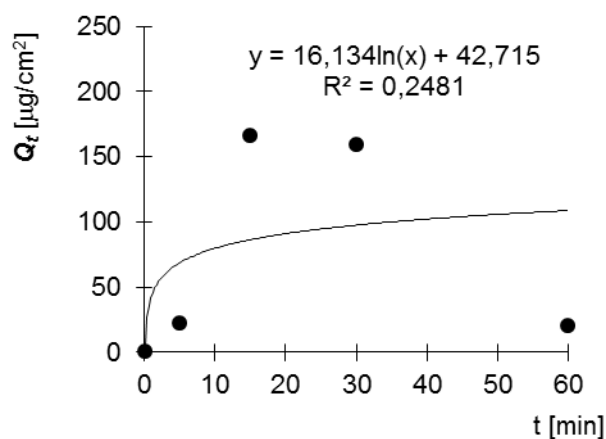
navážka: 10 mg

Měření: GL 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	2,165	0,6	2,165	433,0	21,6
10	0,445	0,6	0,510	102,1	5,1
15	16,478	0,6	16,556	3 311,2	165,6
30	15,352	0,6	15,925	3 185,0	159,3
60	1,022	0,6	2,055	411,1	20,6
120	13,371	0,6	14,435	2 886,9	144,3
240	13,648	0,6	15,113	3 022,6	151,1
360	14,116	0,6	15,991	3 198,2	159,9

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		68,5
5	21,6	69,6
15	165,6	71,8
30	159,3	75,2
60	20,6	81,9



Protokol 60

Liberace z polyakrylátových nanomembrán s 30% naproxenu

V_o	[ml]
t	[min]
C_{nk}	[mg/100ml]
ΔV_{dop}	[ml]
C_k	[mg/100ml]
Q_t	[μ g] ve V_o
\underline{Q}_t	[μ g] ve $V_o / 1\text{cm}^2$

$V_o =$ 20

membr.: 7D2nG 30% 1/8

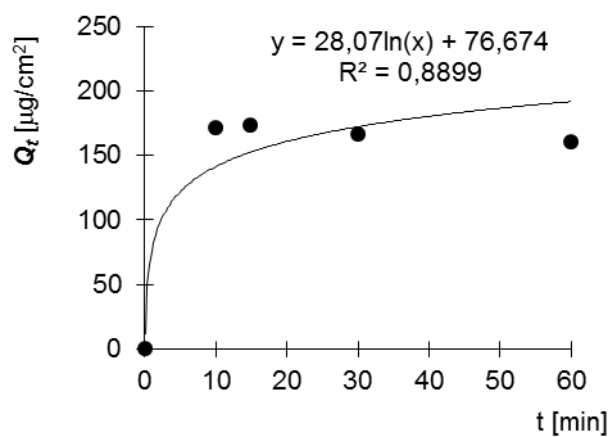
navážka: 10 mg

Měření: GL 2

Plocha: 20 cm^2

t	C_{nk}	ΔV_{dop}	C_k	Q_t	\underline{Q}_t
5	22,441	0,6	22,441	4 488,2	224,4
10	16,459	0,6	17,132	3 426,3	171,3
15	16,084	0,6	17,251	3 450,2	172,5
30	14,955	0,6	16,605	3 321,0	166,0
60	13,893	0,6	15,991	3 198,3	159,9
120	13,425	0,6	15,940	3 188,0	159,4
240	12,853	0,6	15,771	3 154,2	157,7
360	14,011	0,6	17,315	3 463,0	173,1

t	$\underline{Q}_t (exp)$	$\underline{Q}_t (teor)$
0,1		97,5
10	171,3	113,3
15	172,5	121,2
30	166,0	145,1
60	159,9	192,7



6. VÝSLEDKY A DISKUZE

Prvotní orientační hodnocení chování naproxenu při třech zásadně rozdílných hodnotách pH mělo smysl v předběžném vizuálním, případně také analytickém hodnocení změn krystalické podoby naproxenu ve vodných vehikulech. Makroskopická znalost takového chování je často důležitá pro správné průběžné sledování jevů a chování nanomembrán s léčivem ve vlastních navazujících liberačních experimentech.

Série nastavených koncentrací naproxenu v disperzích vycházela z údaje o 15 % koncentraci léčiva v nanovlákněné membráně a plochy membrány, která bude sloužit pro liberační pokus.

Pokud jde o roztoky naproxenu o pH, měla tato acidita imitovat, resp. i převýšit drastičnost acidobazických podmínek v žaludku. Smyslem bylo orientační ujištění, že za těchto poměrů při přímém kontaktu léčiva, případně nanomembrány s obsahem tohoto léčiva s tímto prostředím, nedochází k nějakým nepředvídatelným jevům limitujícím pozdější liberační experiment.

V prostředí o pH 1,5 se naproxen se ani po zahřátí na 50°C ani částečně nerozpustil a při stálém míchání, po 3 dnech a při 37°C ani nezměnil svůj makroskopický vzhled. Simulace průchodu nanovlákněné membrány s obsahem naproxenu přes žaludek se proto může případně zaměřit pouze na chování nanovlákněné polymerní membrány. Náš experiment ovšem postupoval směrem k acidobazickým poměrům ve střevě.

Hodnota pK_A naproxenu je 4,2, což znamená, že při pH 4,2 je polovina iontů disociovaná a polovina nedisociovaná. V prostředí o pH 4,2 se vzorek naproxenu úplně nerozpustil ani po zahřátí na 50°C, po 3 dnech v prostředí o 37°C ale zůstaly pouze nerozpuštěné malé částičky. Pouze u nejméně koncentrované soustavy s 1 mg% naproxenu došlo po zahřátí vzorku na 50°C k zřetelnému rozpuštění vzorku, po 12 h v prostředí o 37°C se vzorek zcela rozpustil.

Vzhledem k tomu se ukázalo, že liberační experiment bude směřován na testování liberace v zásaditém pH vhodného pufru. Pro stanovení HPLC naproxenu sice byla vybrána metoda s nedisociovanou formou naproxenu s kyselou mobilní fází, avšak po ověření možných rizik (mimo tuto diplomovou práci), bylo toto prostředí shledáno jak z farmakologického, biofarmaceutického i analytického hlediska pro liberační in vitro experiment za vhodné.

Cílem laminace bylo zajistit změny v chování membrán, především změny v rychlosti uvolňování naproxenu, ale také i celkové makroskopicky patrné změny. Předpokladem bylo,

že pokud dojde k laminaci do vícevrstevných soustav, budou se membrány chovat jako depotní rezervoáry, v nichž bude léčivo předběžně připraveno pro liberaci počátečním vysycením mezivrstev kapalného hydrofilního pojiva s relativně vyšší rozpustností pro jinak špatně rozpustný naproxen.

Po fázi rychlého uvolnění léčiva z nanovláknenných membrán do mírně alkalického prostředí o pH 7,7, v němž se naproxen poměrně dobře rozpouští, by měla následovat perioda ustáleného pomalého uvolňování léčiva.

Důvodem zpomalené periody liberace by měl být především komplikovanější přístup akceptorové fáze (v našem experimentu pufru o pH 7,7) k povrchu nanomembrán, a to z prostorově tvarových důvodů daných adhezí membrán přilehlých na sobě v několika vrstvách. Proti tomuto předpokládanému efektu mohl působit rozpouštěcí a konvektivní efekt kapalných vehikul použitých ke spojení laminovaných vrstev.

Jako hydrofilní pojiva byl zadán nejprve glycerol 85% a propylenglykol. Vhodné pojivo obecně nesmí přímo reagovat s použitým léčivem a nesmí nepříznivě působit na lidský organismus. V daném případě jsme nevyklučovaly předběžný rozpouštěcí efekt obou kapalin vůči naproxenu, naopak, ten byl považován za možnou interakci s jinak velmi špatně rozpustným naproxenem.

Ukázalo se, že laminace membrán propylenglykolem je velmi obtížná a zjevně nepřevoditelná do výrobních poměrů. V případě glycerolu je laminace snadnější, v malém laboratorním měřítku proveditelná. Po ukončení eluce byly vrstvy nanovláknenných membrán od sebe odděleny, nedržely pohromadě.

Pro srovnání je možné uvést, že tentýž proces byl naopak poměrně jednoduše proveditelný v případě využití oleoesteru, jak bylo vyhodnoceno ve zmiňované práci V. Vlkové.⁵³

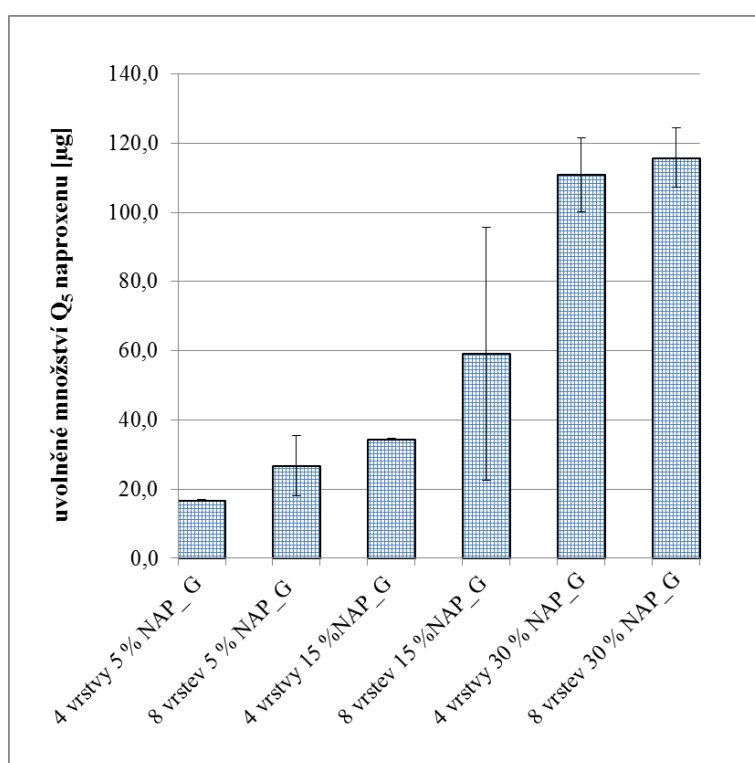
K zaznamenání všech podstatných naměřených hodnot z provedených liberačních experimentů slouží protokoly v části **5. Dokumentace**. V tabulkové části protokolů jsou všechny hodnoty naměřených koncentrací naproxenu v akceptorové fázi, dále jejich hodnoty korigované na odběr určitého objemu této fáze ke stanovení, a další přepočtené hodnoty množství léčiva Q_t uvolněného v daném čase z 1 cm^2 testovaných membrán.

Pro potřeby jejich prvotního zpracování byly vybrány hodnoty Q_5 kvant léčiva z prvního odběru, který byl vždy hned po 5 minutách od započetí liberace a analogické hodnoty Q_{60} ze stanovení naproxenu v odběrech po 60 minutách. Jednotlivé hodnoty Q_5 resp. Q_{60} byly přeneseny do pracovních tabulek v programu Excel. V nich byly rozčleněny do jednotlivých podskupin podle koncentrace naproxenu v nanovlákněch a podle počtu vrstev

v námi připravené lamely a korigovány příslušnými hodnotami hmotností nanovláknenných membrán ve vzorcích (samostatných membrán i „lamel“).

Pro vyvození orientačních, avšak zásadních závěrů, které jsou potřebné pro navazující práce, byly výsledky vyhodnoceny pomocí jednoduchých srovnávacích grafů. Jsou na nich postupně, po jednotlivých experimentálních skupinách, na **grafech 1 a 3** vyznačeny průměrné hodnoty Q_5 uvolněných kvant naproxenu a příslušné směrodatné odchylky těchto průměrů.

Graf 1: Uvolněná množství Q_5 naproxenu do prostředí pH 7,7 z 1 cm² nanovláknenných membrán spojených glycerolem



Toto znázornění získaných výsledků ukazuje variabilitu hodnot Q_5 , která není vzhledem k povaze pokusu vysoká a odpovídá obvyklé neurčitosti počátečního stadia podobných pokusů i experimentálním možnostem v přesnosti jednotlivých kroků pokusu, navážkami membrán počínaje.

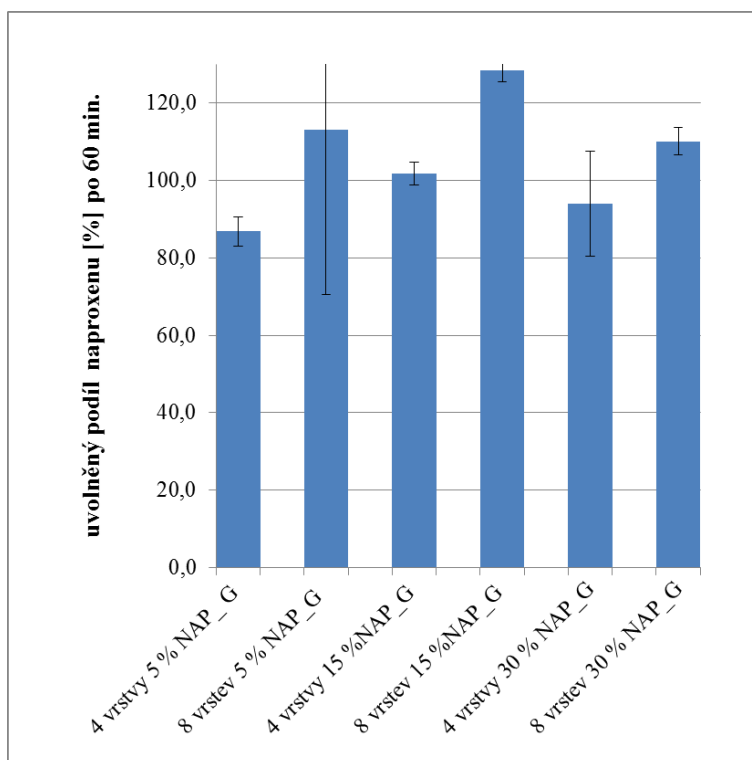
Bez ohledu na ni jsou zajímavé poměrně nízké absolutní hodnoty naproxenu uvolněného z membrán s 30% léčiva při laminaci do 8 vrstev, ve srovnání se vzorkem o koncentraci 5 % naproxenu laminovaného také do 8 vrstev. Jedná se o výsledky záměrně pochycené co nejdříve od započetí pokusu, v období prvotních neustálených poměrů v liberační buňce. Přesto je jasně vidět zásadní vliv koncentrace léčiva v membráně, vliv

vrstvení s pojivem je možné považovat za neprůkazný, pochybující se řádově v rámci experimentálních chyb.

V dalších časových úsecích liberace, jak je patrné na všech jednotlivých průbězích liberačních křivek v protokolech části **5. Dokumentace**, se tato situace velmi brzy vyrovnává a směřuje k maximálnímu uvolnitelnému kvantu naproxenu.

Pro odhad celkově uvolnitelného podílu léčiva vztaženého k původnímu množství naproxenu v testovaném kousku 1 cm² membrány byl zvolen interval 60 minut liberace. Po tomto časovém úseku již ve všech případech dospělo uvolňování k rovnovážnému stavu, jak opět ukazují jednotlivé průběhy liberačních křivek v protokolech dokumentační části. Pro vyjádření uvolnitelného podílu bylo zvoleno procentuální znázornění, jak ukazují **graf 2** pro membrány s glycerolem a **graf 4** pro membrány s propylenglykolem.

Graf 2: Uvolněné podíly naproxenu po 60 minutách liberace do prostředí pH 7,7 v procentech celkového množství z nanovláknenných membrán zpracovaných s glycerolem

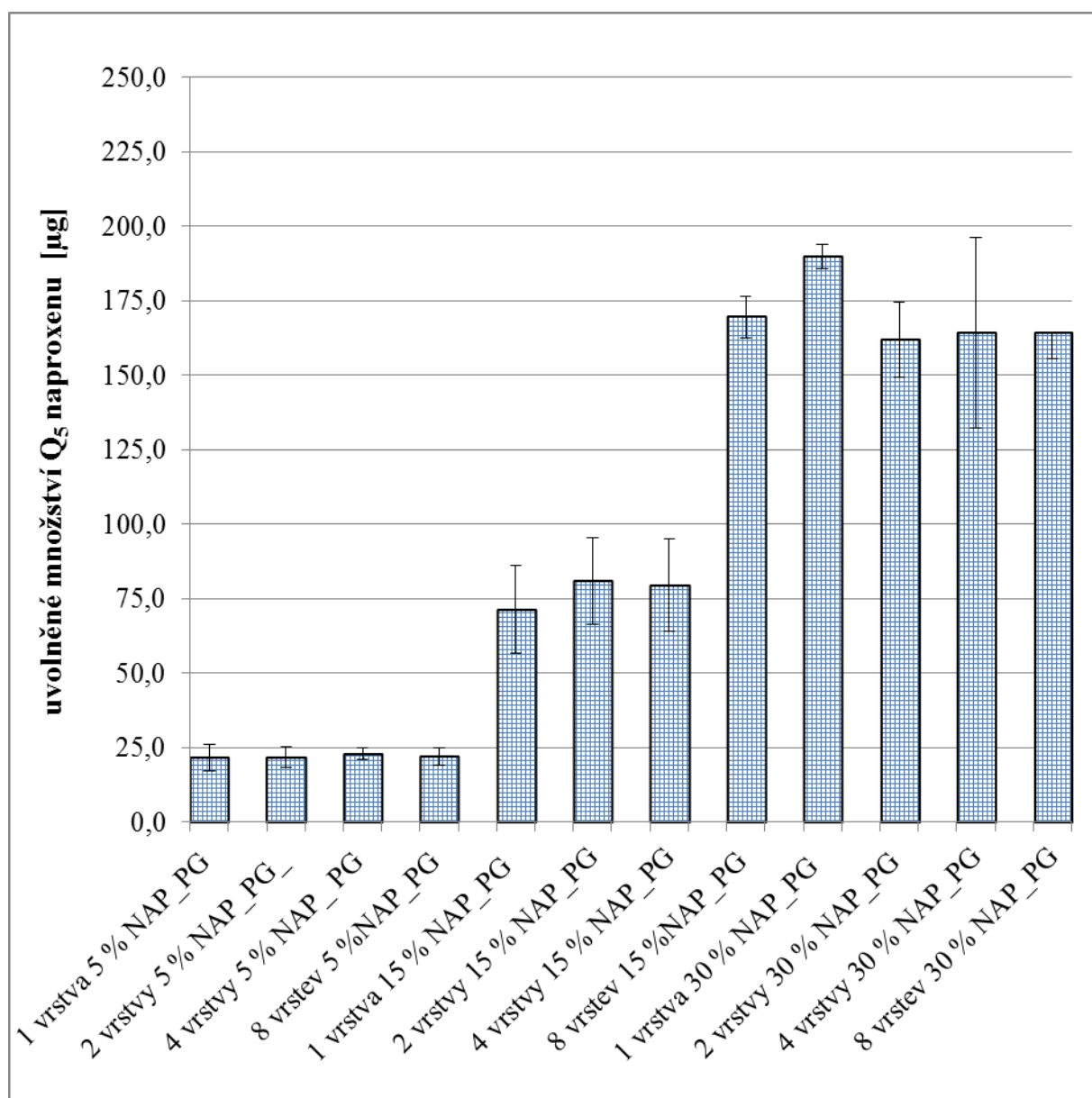


Výsledky získané pro větší počet skupin zpracovávaných s propylenglykolem, k nimž byly zařazeny také membrány spojené pouze do dvou vrstev a navíc také samostatná nanovlákná membrána, jsou prezentovány na dalších dvou **grafech 3 a 4**.

Znázornění naměřených výsledků na **grafu 3** ukazuje, že při použití propylenglykolu jsou liberační hodnoty naproxenu již po 5 minutách pokusu v rámci jednotlivých podskupin se stejnou původní koncentrací léčiva v membráně prakticky stejné, vliv vrstvení se neuplatňuje ani zde.

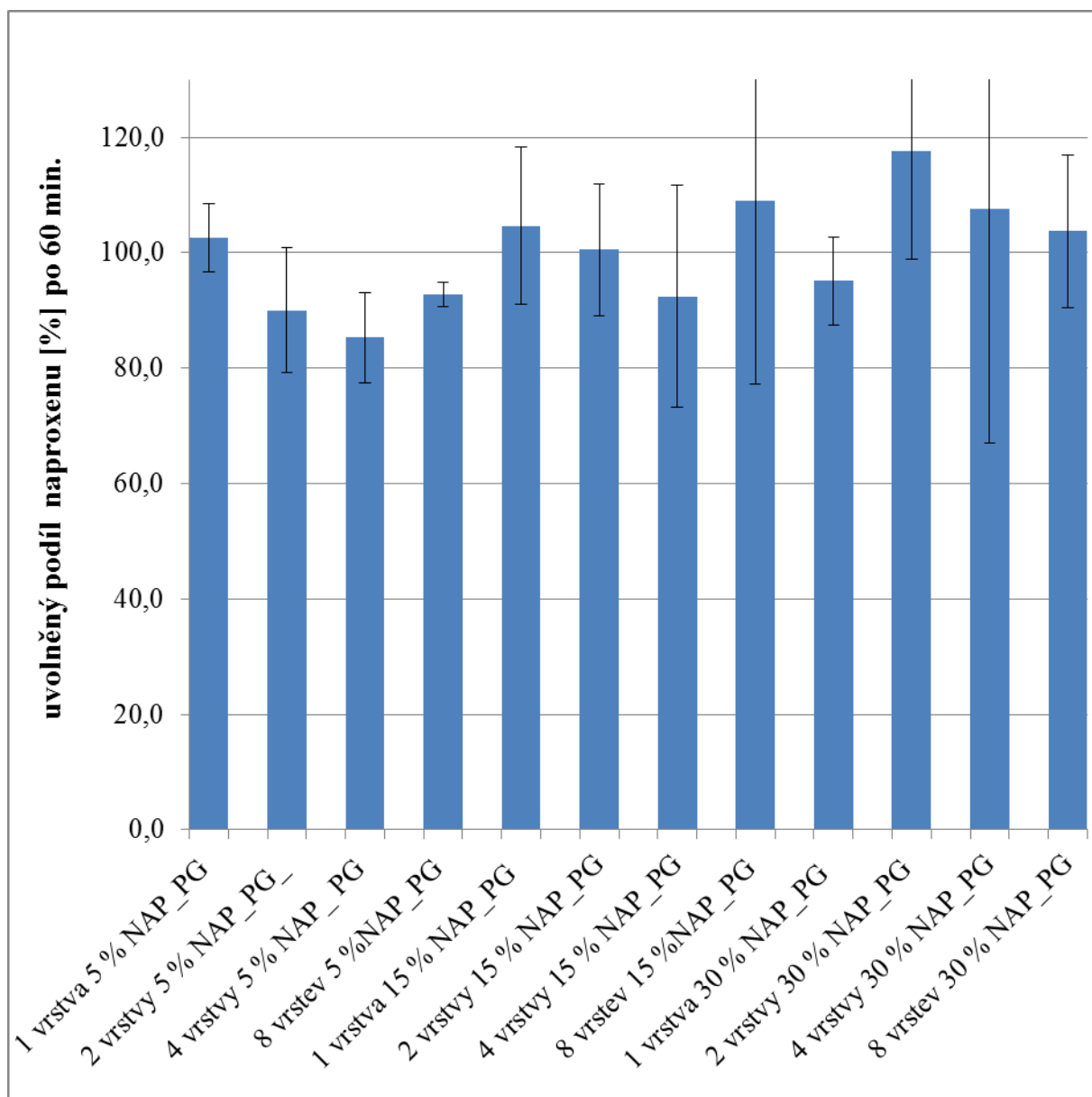
Použití propylenglykolu tedy zřejmě neovlivňovalo očekávanou a prakticky okamžitou liberaci léčiva z nanovláken. Toto zjištění je dobře vysvětlitelné tím, že i tak již velmi rychlé uvolňování léčiva z nanomembrány zřejmě nelze ještě dále urychlovat, resp. případné změny v intervalu 5 minut od počátku liberace postihnout.

Graf 3: Uvolněná množství Q_5 naproxenu do prostředí pH 7,7 z 1 cm^2 nanovlákných membrán spojených propylenglykolem



Překvapivé a v tomto kontextu pozitivní je ovšem zjištění, že ani pokusná laminace prakticky nijak neovlivnila rychlost liberace z vícevrstevných útvarů. Toto zjištění je pro další úvahy o možných způsobech zpracování nanovláknenných membrán určitě nejvýznamnější.

Graf 4: Uvolněné podíly naproxenu po 60 minutách liberace do prostředí pH 7,7 v procentech celkového množství z nanovlákněných membrán zpracovaných s propylenglykolem



8. ZÁVĚRY

1. Mírně alkalické prostředí trometamolového pufru pH 7,4 nečinilo potíže pro liberační experimenty jak z hlediska vlastností naproxenu, tak testované polykapronové nanovlákněné membrány s obsahem naproxenu. Použitá HPLC metoda stanovení naproxenu s UV detekcí byla po okyselení mobilní fáze pro HPLC kyselinou fosforečnou prověřena a může proto být doporučena k ověření obvyklých parametrů (mimo tuto diplomovou práci), a k dalšímu využití.
3. Vrstvení pomocí glycerolu nečinilo technické problémy, membrány se neoddělovaly.
4. Vrstvení hodnocených nanovlákněných membrán pomocí propylenglykolu je technicky obtížně proveditelné. Membrány na kontakt s kapalinou reagovaly kontrakcí a v průběhu liberace se oddělovaly. Propylenglykol se pro daný účel jako pojivo neosvědčil.
5. Naměřené hodnoty kvant Q_5 naproxenu uvolněných po 5 minutách z 1 cm nanovlákněné membrány zpracované s glycerolem byly v rozpětí od $16,1 \pm 1,0 \mu\text{g}$ pro 4 vrstvy membrány s 5 % naproxenu do $115 \pm 8,6 \mu\text{g}$ pro 8 vrstev membrány s 30 % léčiva.
6. Uvolněné podíly naproxenu po 60 minutách liberace z 1 cm nanovlákněné membrány s glycerolem byly v rozpětí od 85 % pro 4 vrstvy membrány s 5 % naproxenu do 110 % pro 8 vrstev membrány s 30 % léčiva.
7. Naměřené hodnoty kvant Q_5 naproxenu uvolněných po 5 minutách z 1 cm^2 nanovlákněné membrány zpracované s propylenglykolem byly v rozpětí od $21 \pm 4,5 \mu\text{g}$ pro 1 vrstvu membrány s 5 % naproxenu do $181 \mu\text{g} (\pm 4,0 \mu\text{g})$ pro 1 vrstvu, resp. $164,3 (\pm 8,6 \mu\text{g})$ pro 8 vrstev membrány s 30 % léčiva.
8. Uvolněné podíly naproxenu po 60 minutách liberace z 1 cm^2 nanovlákněné membrány s propylenglykolem byly v rozpětí od 85 % pro 4 vrstvy membrány s 5 % naproxenu do 118 % pro 8 vrstev membrány s 30 % léčiva.

9. LITERATURA

- ¹ Lachman, L., Lieberman, H., Kanig, L.J.: *The Theory and Practise of Industrial Pharmacy*. 3rd ed. Lea and Febiger. Philadelphia **1986**. pp. 246–254.
- ² Florence A.T., Attwood, D.: *Physicochemical Principles of Pharmacy*. 4th Ed. Pharmaceutical Press, London **2006**. pp. 141– 142.
- ³ Myrdal, P.B.; Yalkowsky, S.H.: Solubilization of drugs in aqueous media. In: Swarbrick, J.: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 3rd ed. Informa Health Care. New York **2007**. pp. 3311 – 3314.
- ⁴ IUPAC gold book, <http://goldbook.iupac.org/S05740.html>
- ⁵ Aulton, M.: Dissolution and Solubility In: Aulton, M.E. *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*. 2nd ed. Churchill Livingstone, **2002**. pp.15–32.
- ⁶ <http://www.e-chembook.eu/cz/obecna-chemie/chemicka-rovnovaha> [on line 15/02/2013]
- ⁷ Český lékopis 2009. Doplněk 2011. Grada Publ. Praha 2011. s. 98
- ⁸ <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/ucm128219.htm> [on line 16/02/2013]
- ⁹ Amidon, G.L., Lennernäs, H., Shah, V.P., Crison, J.R.A: Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharm. Res.*, **1995**, 12, 413– 420.
- ¹⁰ Yellela, S.R.K: Pharmaceutical Technologies for Enhancing Oral Bioavailability of Poorly Soluble Drugs. *J. Bioequiv. Bioavail.*, **2010**, 2, 28– 36.
- ¹¹ Blagden, N.; Matase, de M.; Gavan, P.T.; York, P.: Crystal Engineering of Active Pharmaceutical Ingredients to Improve Solubility and Dissolution Rates . *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, 59,7, 617– 603.
- ¹² Lieberman, H.A., Lachman, L., Schwarz, J.B.: *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*. Marcel Dekker. New York **1989**. pp.188.
- ¹³ <http://nsti.org/Nanotech2008/showabstract.html?absno=292> [on line 20/02/2013]
- ¹⁴ Voigt, M., Kunath, K., Dressman, J.B.: Dissolution Enhacement of Fenofibrate by Micronization, Co-grinding and Spray-drying: Comparison with Commercial Preparations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2008**, 68, 283–288.
- ¹⁵ Chaumeil, J.C.: Micronization: A Metod of Improving The Bioavailability of Poorly Soluble Drugs. *Meth. Find. Exper. Clin. Pharmac.*, **1998**, 20, 211–215.
- ¹⁶ Meshali, M.M, Gabr. K. E. El-Shaboury M.H.: Formulation of Hydroflumethazide Dispersable Tablets. *Pharm Res.*, **1992**, 9, 960–962.

- ¹⁷ Goldberg A.H., Gibaldi M., Kanig J.L.: Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures: III: Experimental evaluation of griseofulvin-succinic acid solution. *J. Pharm. Sci.* **1966**, 55, 487–492.
- ¹⁸ Gupta, P.; Kakumanu, V.K.; Bansal, A.K. Stability and Solubility of Celecoxib-PVP Amorphous Dispersions: a Molecular Perspective. *Pharm. Res.* **2004**, 21, 1762–1769.
- ¹⁹ Chiou, L.W., Riegelman, S.: Pharmaceutical Applications of Solid Dispersion Systems. *J. Pharm. Sci.* **1971**, 60, 1281–1302.
- ²⁰ Nanosuspension Drug Delivery Technology and Application-nanotech-express pharma pulse.htm, <http://www.epresspharmapulse.com> (on line 22/02/2013).
- ²¹ Abdul-Fattah, A.M., Bhargava, H.N.: Preparation and in Vitro Evaluation of Solid Dispersions of Halofantrine. *Int. J. Pharm.* **2002**, 235, 17–33.
- ²² Muller, R.H., Jacobs, C., Kayer, O.: Nanosuspensions of the Formulation of Poorly Soluble Drugs In: Nielloud, F.; Marti-Mestres, G. *Pharmaceutical Emulsion and Suspension*. Marcel Dekker, New York **2000**. pp. 383–407.
- ²³ Nash, R.A. Suspensions In: Swarbrick, J.; Boylan, J.C. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 2nd ed. Marcel Dekker, New York **2002**. pp.2045– 3032.
- ²⁴ Chowdary, K.P.R., Madhavi, B.L.R.: Novel Drug Delivery Technologies for Insoluble Drugs. *Indian Drugs* **2005**, 42, 557– 564.
- ²⁵ Patravale, V.B.y Date, A.A., Kulkarni, R.M.: Nanosuspensions: A Promising Drug Delivery Strategy. *J. Pharm. Pharmacol.* **2004**, 56, 827–840.
- ²⁶ Muller, R.H., Bohm, B.H.L., Grau, J.: Nanosuspensions: A Formulation Approach for Poorly Soluble and Poorly Bioavailable Drugs In: *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. D.Wise (Ed). New York **2000**. pp. 345–357.
- ²⁷ Merisko-Liversidge, E.; Liversidge, G.G.; Cooper, E.R. Nanosizing: A Formulation Approach for Poorly-Water-Soluble Compounds. *Eur.J. Pharm. Sci.*, **2003**, 18,113–120.
- ²⁸ Keck, C.M., Miller, R.H.: Drug Nanocrystals of Poorly Soluble Drugs Produced by High Pressure Homogenisation. *Eur.J. Pharm. Biopharm.* **2006**, 62, 3–16.
- ²⁹ Langguth, P., Janaty, A., Frenzel, D. et al.: Nanosuspension Formulations for Low-Soluble Drugs: Pharmacokinetic Evaluations Using Spironolactone as Model Compound. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2005**, 31, 319–329.
- ³⁰ Jacobs, C., Miller, R.H.: Productions and Characterization of a Budesonide Nanosuspension for Pulmonary Administration. *Pharm. Res.*, **2002**, 19,189–194.
- ³¹ Möschwitzer, J. Achleitner, G., Pomper, H. Miller, R.H.: Development of an Intravenously Injectable Chemically Stable Aqueous Omeprazole Formulation Using Nanosuspension Technology. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2004, 58, 615–619.

-
- ³² Briggs, A.R.; Maxwell, T.J. Process for Preparing Poder Blends. US Pat. No.3721725, **1973**.
- ³³ Rogers, T.L., Hu, J., Yu, Z., Johnston, K.P., Williams, R.O.: A novel Particle Engineering Technology: Spray-freezing Into liquid. *Int. J. Pharm.* **2002**, 242, 93100.
- ³⁴ Buxton, I.R., Peach, J.M.: Process and Apparatus for Freezing a Liquid Medium. US Pat. No. 4470202, **1984**.
- ³⁵ Purvis, T., Mattucci, M.E., Crisp, M.T., Johnston, K.P., Williams, R.O.: Rapidly Dissolving Repaglinide Powders Producers by the Ultra-rapid Freezing Process. *AAPS PharmSciTech.* **2007**, 8 (3) E55–E60.
- ³⁶ Uekama, K.; Hirayama, F.; Irie, T. Cyclodextrin Drug Carrier Systems. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 2045–2076.
- ³⁷ Komárek, P.; Rabišková, M. et al. *Technologie léků*. 3rd ed. Galén: Praha, s.148–149, s. 147–148.
- ³⁸ <http://www.pharmainfo.net/santosh-kumar-jh/role-cyclodextrins-drug-delivery> [on line 22/02/2013]
- ³⁹ Parikh, R.K., Mansuri, N.S., Vogel, M.C., Soniwala, M.M.: Dissolution Enhancement of Nimesulide Using Complexation and Salt Formation Techniques. *Indian Drugs.* **2005**, 42, 149–154.
- ⁴⁰ Cao, F.; Guo, J.; Ping, Q. The Physicochemical Characteristics of Freeze-dried Scutellarin-cyclodextrin Tetracomponent Complexes. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2005**, 31, 747–756.
- ⁴¹ Wen, X.; Tan, F.; Jing, Z.; Liu, Z. Preparation and Study the 1:2 Inclusion Complex of Carvedilol with β -cyclodextrin. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, 34, pp.517–523.
- ⁴² http://www.icpf.cas.cz/cs/system/files/users/public/bendova_8/gallery_assist/gallery_265/superkrit_diagram.jpg [on line 4/03/2013]
- ⁴³ Sunkara G., Kompella, U.B.: Drug Delivery Applications of Supercritical Fluid Technology. *Drug Deliv. Technol.* **2002**, 2, 44–50.
- ⁴⁴ Manna, L., Bancharo, M., Sola, D., Ferri, A.; Ronchetti, S., Sicardi, S.: Impregnation of PVP Microparticles with Ketoprofen in the Presence of Supercritical CO₂. *J. Supercrit. Fluid* **2007**, 42, 111–119.
- ⁴⁵ Rangel-Yagui, C.D., Pessoa, A., Tavares, L.C., Micellar Solubilizations of Drugs. *J. Pharm. Pharmac. Sci.* **2005**, 147–163.
- ⁴⁶ Hsu, C.H., Cui, Z., Mumper, R.J., Jay, M.: Micellar Solubilization of Some Poorly Soluble Antidiabetic Drugs. *AAPS PharmSciTech.* **2008**, 9, 939–943.

-
- ⁴⁷ Rasool, A.A., Hussain, A.A., Dittert, L.W.: Solubility Enhancement of Some Water-Insoluble Drugs in the Presence of Nicotinamide and Related Compounds. *J. Pharm. Sci.* **1991**, 80, 387–393.
- ⁴⁸ Badwan, A.A., El Khordagui, K.L., Saleh, A.M., Khalil, S.A.: The Solubility of Benzodiazepines in Sodium Salicylate Solution and Proposed Mechanism for Hydrotropic Solubilization. *Int. J Pharm.* **1983**, 13, 67–74
- ⁴⁹ Roy, B.K., Koulil, S.P.: Functions of Hydrotropes (Sodium Salicylate, Proline, Pyrogallol, Resorcinol and Urea) in Solution with Special Reference to Amphiphile Behaviors. *Colloids Surfaces* **2002**, 203, 155–166.
- ⁵⁰ <http://cs.wikipedia.org/wiki/Naproxen> [on line 6/03/2013]
- ⁵¹ Katzung, B.G. *Základní a klinická farmakologie*. H&H Vyšehradská s.r.o.. Praha **2006**, s.577
- ⁵² Lincová, D.; Farghali, H. *Základní a aplikovaná farmakologie*. 2. Vyd. Galén. Praha **2007**, 304 s.